UNTERSUCHUNGEN AN 4-AMINO [2, 3 d] - PYRROLOPYRIMIDINEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von
GERD FOLKERS
aus
ANDERNACH - NAMEDY

BONN 1980

UNTERSUCHUNGEN
AN 4-AMINO [2, 3 d] - PYRROLOPYRIMIDINEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu
BONN

vorgelegt von
GERD FOLKERS
aus
ANDERNACH - NAMEDY

BONN 1980

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematischen-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn.

1. Referent: Prof. Dr. H. J. Roth

2. Referent: Prof. Dr. G. Rücker

Tag der mündlichen Prüfung: 29. April 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: Rheinische Friedrich-Wilhelm-Universität Bonn 1980

Für meine Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546507_0012

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
Einleitung und Problemstellung		7
Allgemeiner Teil		
1.	Untersuchungen zur Stabilität der Pyrrolopyrimidine	9
1.1.	Verhalten gegen Säuren	9
1.2.	Verhalten gegen Basen	9
2.	Salzbildung	9
2.1.	Herstellung der Salze	9
2.2.	Bestimmung der pka-Werte	12
2.2.1.	Grundlagen	12
2.2.2.	Bestimmungsmethoden	13
2.2.2.1.	Methode der spektralen Extrapolation	14
2.2.2.2.	Potentiometrische Titration	14
2.2.2.3.	Messung der Äquivalentleitfähigkeit	15
3.	Bestimmung der Gesamtlipophilie	25
3.1.	Grundlagen	25
3.2.	Bestimmungsmethoden	34
3.2.1.	Der Verteilungskoeffizient	35
3.2.1.1.	Erfassung des Verteilungskoeffizienten durch Ausschütteln	35
3.2.1.2.	Bestimmung des Verteilungskoeffizienten durch Titration	37
3.2.2.	Bestimmung der Rm-Werte	41
4.	Bestimmung des nukleophilen Zentrums durch Acetylierung	48

5.	Spektroskopische Untersuchungen	49
5.1.	Infrarot-Spektren	49
5.2.	Ultraviolett-Spektren	53
5.3.	Kernresonanzspektroskopie	56
5.3.1.	^{1}H-NMR	56
5.3.2.	^{13}C-NMR	68
5.4.	Massenspektren	73
6.	Berechnungen der Ladungsdichte	77
7.	Bestimmung des basischen Zentrums	81
8.	Berechnung der Konformation des Ringsystems	83
9.	Zusammenfassung	90

Spezieller Teil

Verzeichnis der untersuchten Verbindungen

Verzeichnis der verwendeten Symbole

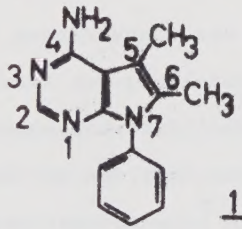
Literaturverzeichnis

Lebenslauf

Einleitung und Problemstellung

Im Rahmen der Mitteilungen von Roth und Eger[1)2)3)4)] über Synthesen und Eigenschaften purinähnlicher Heterozyklen werden unter anderem substituierte 4-Amino [2,3-d] pyrrolopyrimidine beschrieben, die im pharmakologischen Screening neben geringer Toxizität eine beachtliche biologische Aktivität als Sedativa, Antiphlogistika sowie als Antikonvulsiva aufweisen. Aus ersten Untersuchungen zur Struktur-Wirkungsbeziehung ergab sich der Prototyp I mit folgenden essentiellen Strukturmerkmalen:

Phenylring in Pos. 7
CH_3-Gruppe in Pos. 5 und 6
Aminogruppe in Pos. 4



1

In der Arbeit von Issa[5)] sollte daraufhin durch Substitution des Phenylringes versucht werden, eine Differenzierung des Wirkungsspektrums zu erreichen, sowie durch ein nichtmathematisches Verfahren (Topliss Modell) zur bestwirksamsten Verbindung zu gelangen. Nach dem Topliss Modell wurde mit dem p-Brom Derivat (2) zwar die bis jetzt biologisch wirksamste Verbindung gefunden, bei ausschließlichem Vorgehen nach dieser Methode wären jedoch die ebenfalls gut wirksamen o-substituierten Phenylderivate nicht gefunden worden.

Daraus ergibt sich, daß andere Modelle herangezogen werden müssen.

Aus diesem Grund und um Kenntnisse über die Stoffeigenschaften dieser Klasse zu erhalten, ist die Bestimmung physikochemischer Parameter erforderlich.

Die bisherigen biologischen Untersuchungen haben weiter ergeben, daß der Phenylring sich möglichst nahe am Heterocyclus befinden soll und legen daher die Vermutung nahe, daß Coplanarität Voraussetzung für gute Wirksamkeit ist.

Betrachtungen des Moleküls im Kalottenmodell zeigen:

Substituenten des Phenylrings in meta-bzw. para-Stellung behindern geringfügig die freie Drehbarkeit bzw. die planare Einstellung.

Substituenten des Phenylringes in ortho-Stellung lassen eine senkrechte Einstellung des Aromaten zum Heterocyclus erwarten.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit ist deshalb der Versuch zu Aussagen über die Konformation von biologisch aktiven 4-Amino [2,3-d] pyrrolopyrimidinen zu gelangen.

1) H.J.Roth u.K.Eger Arch.Pharm.(Weinheim) 308,252(1975)
2) H.J.Roth u.K.Eger Arch.Pharm.(Weinheim) 308,186(1975)
3) W.Zimmermann, K.Eger u.H.J.Roth Arch.Pharm.(Weinheim) 309,597 (1976)
4) M.Kim-Su,K.Eger u.H.J.Roth Arch.Pharm.(Weinheim) 309,721(1976)
5) S.Issa, Dissertation Bonn(1978)Referent H.J.Roth

1. Untersuchungen zur Stabilität der Pyrrolopyrimidine.

Im Hinblick auf die spätere Verwendung als Arzneimittel und damit verbundener galenischer Formulierungsprobleme, ist es wichtig, Daten über die Stabilität eines Wirkstoffes, besonders in unterschiedlichen pH-Bereichen zu erhalten.
Im folgenden wird das Verhalten der Pyrrolopyrimidine im sauren und alkalischen Milieu untersucht.

1.1. Verhalten gegen Säuren.

Verschiedene Pyrrolopyrimidine werden in Säuren protoniert. Als Reaktionsprodikte können die jeweiligen Salze isoliert werden. (s.auch Kap. 2.1.)

1.2. Verhalten gegen Basen.

Dazu wird die 2,4,5,-Trichlorverbindung (1) mit ethanolischer Kaliumhydroxidlösung verschiedener Stärke (bis zu 25%) behandelt. Nach 12stündigem Kochen am Rückfluss zeigen sich im Chromatogramm keine Veränderungen gegenüber der Ausgangssubstanz. Die Verbindungen sind also sowohl im Sauren wie im Alkalischen beachtenswert stabil.
Zu ähnlichen Ergebnissen in Bezug auf die Stabilität kommt auch die massenspektroskopische Analyse.(s.auch Kap.5.4.)

2. Salzbildung

Wegen der geringen Wasserlöslichkeit der pharmakologisch untersuchten Pyrrolopyrimidine, sollen die entsprechenden Salze hergestellt werden.

2.1. Herstellung der Salze

Als generelles Verfahren erweist sich die Umsetzung der jeweili-

gen Base direkt in der entsprechenden Säure als geeignet. Die 2, 4,5,-Trichlorverbindung (1), als besonders schlecht wasserlösliche Substanz, dient dabei als Modellsubstanz.

Salze der folgenden Säuren werden hergestellt:

Salzsäure (Umsetzung mit ethanolischer HCl-Lösung)

Schwefelsäure (Umsetzung mit verdünntem H_2SO_4)

Milchsäure (Umsetzung mit wässriger Milchsäure-Lösung)

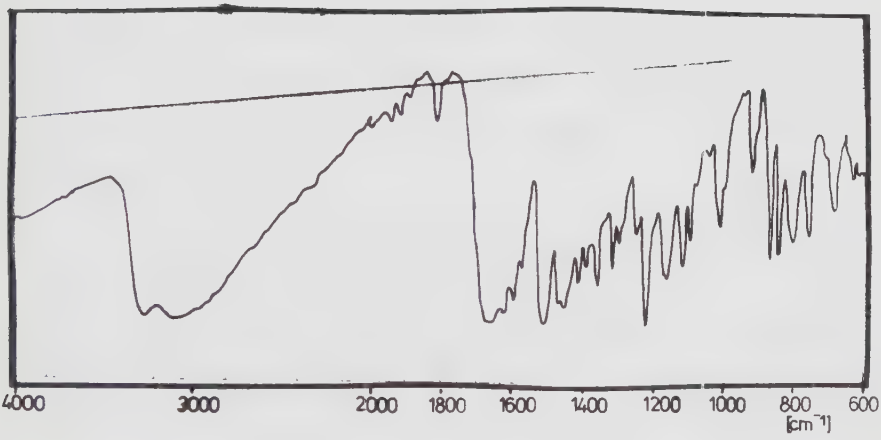
Weinsäure (Umsetzung mit wässriger Weinsäure-Lösung)

Zitronensäure (Umsetzung mit wässriger Zitronensäure-Lösung)

Gluconsäure (Umsetzung mit wässriger Gluconsäure-Lösung)

Das Hydrochlorid lässt sich außerdem noch gewinnen durch Einleiten von HCL-Gas in gesättigte Aceton- oder Dioxanlösungen der Base, dabei kristallisiert das Salz aus.

In allen Fällen werden die jeweiligen Salze isoliert und durch IR-Spektren charakterisiert. (Abb.1) (s.auch Kap.5.1.)



Die Abb.1) zeigt das IR-Spektrum des para-Chlor-Pyrrolopyrimidins. (Verb.Nr.6)

Durch die hohen Schmelzpunkte > 300°C sowie die Einzelnachweise der jeweiligen Anionen können die Verbindungen eindeutig identifiziert werden. Die HCl-Salze lassen sich durch wasserfreie Titration in Eisessig/Acetanhydrid mit Perchlorsäure auch quantitativ erfassen. Aus dem Verbrauch an Maßlösung ergibt sich eine 1:1 Umsetzung.

Trotz der teilweise sehr voluminösen und hydrophilen Anionen kann keine deutliche Verbesserung der Löslichkeiten im wässrigen Milieu erreicht werden. Die Substanzen zeigen lediglich eine bessere Benetzbarkeit im wässrigen Milieu. Die Löslichkeit in organischen Solventien nimmt dabei erwartungsgemäß ab.

2.2. Bestimmung der pka-Werte.

2.2.1. Grundlagen

Für die Entwicklung einer Arzneiform ist unter anderem die Kenntnis der Resorptionscharakteristik von entscheidender Bedeutung. Diese ist bei Arzneistoffen mit sauren oder basischen Eigenschaften eine Funktion der pka-Werte. Die Resorption aus dem Magen- Darmtrakt ist davon abhängig, wie gut die verabreichte Substanz die Lipid-Eiweißmembran zu passieren vermag.

Im Fall der nicht ionischen Diffusion, als einer der diskutierten Transportmöglichkeiten, lassen sich aufgrund der pka-Werte Aussagen über den möglichen Resorptionsverlauf machen.

Schwache Säuren sollten vornehmlich aus dem Magenbereich, schwache Basen hauptsächlich im Darm bei alkalischem pH resorbiert werden, da sie in diesen Organbereichen weitgehend undissoziiert vorliegen. Resorption eines Arzneitstoffes aus neutra-

lem Medium ist jedoch auch möglich. Starke Säuren und Basen zeigen eine wesentlich ungünstigere Resorptionscharakteristik, da sie praktisch in allen Bereichen dissoziiert vorliegen, und ihnen damit der Weg durch die Lipid-Barrieren der Membranen versperrt ist.

Ein weiterer wichtiger Anwendungsbereich der pka-Werte geht aus den Arbeiten von Hammet und Mitarbeiter[6] hervor.

Hammet untersuchte an kernsubstituierten Benzoesäuren den Einfluss der Substituenten auf die Dissoziation des Protons der Carboxylgruppe. Dabei erhielt er aus der Differenz der Logarithmen der Dissoziationskonstanten der unsubstituierten Benzoesäure K_H die elektronische Substituentenkonstante σ_X.

$$\sigma_x = \log K_x - \log K_H \quad (1)$$

σ_x beschreibt die elektronischen Einflüsse eines Substituenten auf das Gesamtmolekül, d.h. die elektronenziehende, bzw. -schiebende Wirkung der Substituenten auf ein Reaktionszentrum. Es lassen sich damit die Substituenteneinflüsse auf die Reaktionsgeschwindigkeiten und die Lage der Reaktionsgleichgewichte in einem System erfassen.

Die σ-Werte sind umso positiver, je stärker die elektronenziehende Wirkung eines Substituenten ist und umgekehrt.

2.2.2. Bestimmungsmethoden der pka-Werte.

Die gebräuchlichsten Methoden zur Bestimmung der pka-Werte sind:

die spektrale Extrapolation,

die potentiometrische Titration,

die Messung der Äquivalentleitfähigkeit.

6) L.P.Hammet, Chem.Rev. 17, 125 (1935)

Alle drei Standardverfahren erweisen sich, wegen des zu großen apparativen Aufwandes einerseits, sowie der schlechten Wasserlöslichkeit der Pyrrolopyrimidine, andererseits für das vorliegende Problem, die Bestimmung der pka-Werte der Pyrrolopyrimidine, als nicht geeignet. Es wird daher eine Methode angewandt, die sich aus der potentiometrischen Titration ableitet.
Die einzelnen Verfahren werden im folgenden diskutiert:

2.2.2.1 Methode der spektralen Extrapolation.

Die spektrale Bestimmungsmethode ist an das Vorliegen einer Säure bzw. Basenfunktion mit chromophoren Gruppen gebunden. Aus den, bei verschiedenen pH-Werten aufgenommenen Spektren werden geeignete Wellenlängen ausgewählt und die Extinktion gegen den pH-Wert aufgetragen. Die entstehende gemittelte Kurve entspricht der Henderson-Hasselbalch'schen Gleichung. Der pH-Wert am Wendepunkt ist das arithmetische Mittel der Werte beider Asymptoten und gibt den pka-Wert an, der an diesem Punkt $C_B = C_{BH^+}$ und folglich pka=pH ist.

2.2.2.2. Potentiometrische Titration.

Bei der potentiometrischen Titration lassen sich zwei Meßmethoden unterscheiden:
Analog registrierte Titrationskurven, bei denen die gemessene Elektrodenspannung als pH unmittelbar gegen die Reagenzzugabe aufgetragen wird.
Digitale Titrationskurven, bei denen für die rechnerische Lösung die Potentialdifferenzen und die Änderungen des Reagenzvolumens als Meßwerte zur Verfügung stehen. Die Bestimmung des pka-Wertes

entspricht somit analog zu 2.2.2.1. der Ermittlung des Halbneutralisationspunktes der titrierten Säure oder Base.

2.2.2.3. Messung der Äquivalentleitfähigkeit.

Nach dieser klassischen Methode der pka-Wert-Bestimmung werden zunächst die Leitfähigkeiten der Substanz bei verschiedenen Konzentrationen gemessesn und anschließend über ein rechnerisches Näherungsverfahren die Aciditätskonstanten bestimmt. Diese stellen als sogenannte thermodynamische Werte sehr genaue Meßgrößen dar. Der meßtechnische Aufwand bei dieser Bestimmung ist allerdings sehr groß.

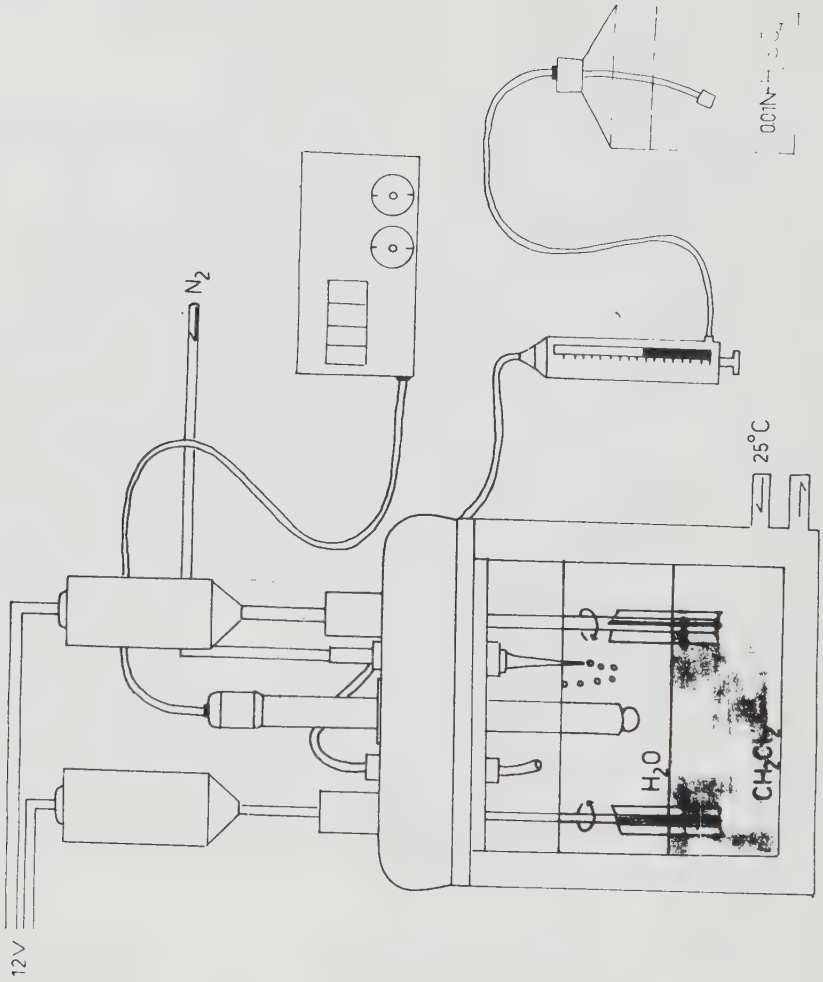
Abweichend von diesen Verfahren wird in der vorliegenden Arbeit ein von Albert und Serjeant [7] entwickeltes Titrationssystem erprobt, das in Arbeiten von Johansson und Gustavii [8] weiterentwickelt und auf schlecht wasserlösliche Substanzen anwendbar gemacht wurde.

Grundlage des Verfahrens ist die Titration in einem System zweier nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten. Das Reaktionsgefäß ist thermostatiert und eine Elektrode erlaubt die Bestimmung des pH-Wertes der wässrigen Phase.

Den Versuchsaufbau zeigt Abb.2).

7) A.Albert and E.P.Serjeant, Ionisation Constants of Acids and Bases Methuen, London 1962

8) P.A.Johansson und K.Gustavii, Acta Pharm.Suec.13,407(1976)



Die Abb.2) zeigt den Versuchsaufbau zur Bestimmung der pka-Werte bzw. der Verteilungskoeffizienten in einem Zweiphasensystem.

Die Substanzen werden in der organischen Phase gelöst. Auf Zugabe von Säuren oder Basen bildet sich die in Anteilen ionisierte Form und geht als solche in die wässrige Phase über.
Die Auswertung erfolgt analog den oben beschriebenen Verfahren durch Errechnung des pka-Wertes aus einer erweiterten Form der Henderson-Hasselbalch'schen Gleichung.
Gleichung (2) gibt die Grundform wieder:

$$pka = pH - \log \frac{CB}{CBH^+} \quad (2)$$

Im vorliegenden Fall werden schwache Basen bestimmt. Durch Zugabe von 10 Äquivalenten Säuren (hier 0,01N H_2SO_4) erhält man für jedes Äquivalent einen bestimmten pH-Wert sowie die prozentuale Dissoziation. Die daraus berechneten Neutralisationsverhältnisse $\frac{C_B}{C_{BH^+}}$ und der gemessene pH-Wert ergeben in Gleichung (2) eingesetzt den zugehörigen pka-Wert.
So werden in jeder Bestimmung 9 pka-Werte gefunden, die gemittelt, einen sogenannten scheinbaren pka-Wert ergeben. Jedem Versuch folgt eine Blindtitration. Der Vorgang soll am Beispiel der para-Brom Verbindung (2) erläutert werden:

Tabelle 1:

Einwaage: 0,01M=0,159g/50ml

Titrations-mittel 0,01N H_2SO_4 (ml)	pH	C_{BH^+}	B	$\frac{C_{BH^+}}{C_B}$	log $\frac{C_{BH^+}}{C_B}$	pka
0,0	6,86	0	0,01	-	-	-
0,5	6,36	0,001	0,009	1/9	-0,95	5,41
1,0	5,25	0,002	0,008	2/8	-0,60	4,65
1,5	4,46	0,003	0,007	3/7	-0,37	4,03
2,0	4,17	0,004	0,006	4/6	-0,18	3,99
2,5	3,97	0,005	0,005	5/5	0,0	3,97
3,0	3,89	0,006	0,004	6/4	0,18	4,07
3,5	3,82	0,007	0,003	7/3	0,37	4,19
4,0	3,72	0,008	0,002	8/2	0,60	4,32
4,5	3,67	0,009	0,001	9/1	0,95	4,62
5,0	3,63	0,01	0,000	-	-	-

Der pka-Wert ergibt sich also unter Einbeziehung aller 9 Werte zu 4,367.

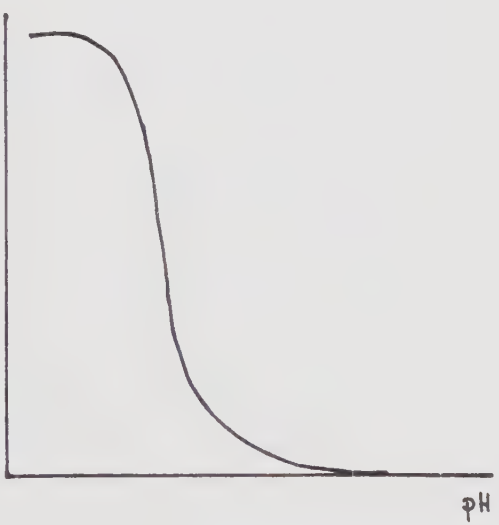
Abb.3 zeigt das zugehörige Ionisationsprofil der para-Brom Verbindung. Solche Profile erhält man aus der Berechnung des Prozentsatzes des ionisierten Stoffes bei verschiedenen pH-Werten, und zwar für protonenaufnehmende Stoffe nach Gleichung (3).

$$\% \text{ ionisiert} = \frac{100}{1+\text{antilog } (pH-pka)} \qquad (3)$$

die sich durch Umformung der Henderson-Hasselbalch'schen Gleichung (1) ergibt:

Abb.3):

pH	% ionisiert
1	99,96
2	99,59
3	96,15
4	71,05
4,5	43,67
5	19,72
6	2,40
7	0,41
8	0,02
9	0,004
10	0,00024



Versuche von Albert und Serjeant zeigen jedoch, daß die Bestimmung einer 0,01M Lösung nur im pH-Bereich von 4-10 unkorrigiert durchgeführt werden können. Für schwache Basen muss bei einer

Titration unterhalb pH 4, für schwache Säuren oberhalb pH 10, eine Korrektur durchgeführt werden. Das folgende Beispiel soll dies verdeutlichen.

Eine schwache Base B ist in pH-Bereichen unter pH 4 vollkommen dissoziiert und liegt als Kationensäure BH^+ vor.

$$[B] = [BH^+] - [H^+] \quad (4)$$

Demnach kann für diesen pH-Bereich C_B aus Gleichung (2) nicht mehr gleich der Basenkonzentration $[B]$ gesetzt werden. Die Gleichung muss den gesamten Ausdruck $[BH^+] - [H^+]$ berücksichtigen.

Gleichung (2) erweitert sich damit zu (5)

$$pH = pka + \log \frac{C_{BH^+} - C_{H^+}}{C_B + C_{H^+}} \quad (5)$$

Die Werte für C_{H^+} können aus Gleichung (6) für die H^+-Aktivität errechnet werden.

$$\{H^+\} = \text{antilog } (0\text{-}pH) \quad (6)$$

Tabelle 2:

Titrations-mittel 0,01 H_2SO_4	pH	BH^+	B	H^+	$\frac{BH^+ - H^+}{B + H^+}$	$\log\frac{BH^+-H^+}{B+H^+}$	pka
0	6,86	0,0	0,01	0	0	-	-
0,5	6,36	0,001	0,009	0	100/900	-0,95	5,41
1,0	5,25	0,002	0,008	0	200/800	-0,60	4,65
1,5	4,46	0,003	0,007	0	300/700	-0,37	4,09
2,0	4,17	0,004	0,006	0	400/600	-0,18	3,99
2,5	3,97	0,005	0,005	0,00012	488/512	-0,02	3,95
3,0	3,89	0,006	0,004	0,00013	587/413	+0,15	4,03
3,5	3,82	0,007	0,003	0,00015	685/315	+0,34	4,16
4,0	3,72	0,008	0,002	0,00019	781/219	+0,55	4,27
4,5	3,67	0,009	0,001	0,00021	879/121	+0,86	4,53
5,0	3,63	0,01	0,0	0	0	-	-

Der auf diese Weise korrigierte pka-Wert errechnet sich zu 4,342.

Die so berechneten pka-Werte berücksichtigen noch nicht, daß der Meßvorgang in einem Zweiphasensystem abläuft, in dem die Reaktionspartner einem Verteilungsprozeß unterliegen.

Um diesen Verteilungsprozeß zu erfassen haben Kaufman und Koski[9] einen Zusammenhang zwischen pka und dem Verteilungskoeffizienten (P) erarbeitet. Danach lässt sich P durch folgende Beziehung ausdrücken:

$$P = \frac{Vw\ (\text{antilog}\Delta\text{pka}-1)}{Vo} \quad (7)$$

Diese Formel lässt sich aus dem Massenwirkungsgesetz sowie aus der Henderson-Hasselbalch'schen Gleichung ableiten:

$$pH = pka + \log \frac{C_{undiss}}{C_{diss}} \quad (8)$$

$$K_a = \frac{C_B \cdot C_{H^+}}{C_{BH^+}} \quad (9)$$

Für den Fall $C_{diss} = C_{undiss}$, entsprechend " halber Neutralisation " ist im rein wässrigen System der pH gleich dem pka. Beim Vorhandensein einer nicht mit Wasser mischbaren organischen Phase wird jedoch der undissoziierte Anteil in diese Phase verteilt. Bei 50 prozentiger Neutralisation ist dann die Menge $[BH^+]$ im Wasser gleich der Menge an freier Base im Wasser plus der Menge freier Base in der organischen Phase

$$V_w [B\,H^+] = V_w [B_w] + V_o [B_o] \quad (10)$$

Diese Beziehung kann in Gleichung (3) eingesetzt werden und er-

9)J.J.Kaufman and W.Koski,J.Med.Chem.18,647(1975)

gibt folgende Form:

$$pH = pka + \log \frac{V_w [B_w] + V_o [B_o]}{V_w [B_w]} \quad (11)$$

Führt man für den Ausdruck $\frac{B_o}{B_w}$ den Verteilungskoeffizienten P ein und formt die Gleichung um, so erhält man

$$pH = pka + \log \left(1+\frac{V_o}{V_w}\right) \cdot P \quad (12)$$

Dies zeigt, daß antilog Δ pka = $1+ \frac{V_o}{V_w} \cdot P$ der Betrag ist, um den der pka-Wert bei einer Zweiphasentitration gegenüber der Bestimmung in nur wässriger Phase verschoben wird.

Für gleiche Volumina V_o und V_w reduziert sich der Ausdruck auf:

$$\text{antilog}\Delta pka = 1 + P \quad (13)$$

Die oben gezeigte Abhängigkeit von P muß also als Korrekturfaktor in die Berechnung der pka-Werte aufgenommen werden. Die Henderson-Hasselbalch'sche Gleichung erweitert sich damit zu:

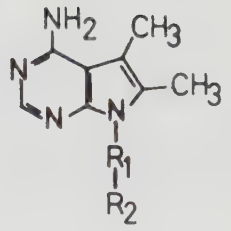
$$pH = -\log \left[(1+P) \times K_{A'}\right] + \log \frac{C_B}{C_{BH^+}} \quad (14)$$

Anhand dieser Formel erhält man die korrekten pka-Werte für die zu bestimmenden Verbindungen.

Tabelle 3 gibt die ermittelten pka-Werte wieder.

Tabelle 3:

R_1	R_2	Nr.	pka
Phenyl	H	(3)	5,14
"	4-OH	(4)	5,10
"	4-OCH_3	(5)	5,16
"	4-Cl	(6)	4,24
"	4-Br	(2)	5,21
"	4-J	(7)	3,60
"	3-Cl	(8)	4,94
"	2-Cl	(9)	4,57
"	2-OCH_3	(10)	5,20
"	4-CH_3	(11)	4,34
Cyclo-hexyl	-	(24)	4,41



Die oben erhaltenen pka-Werte können noch unter Einrechnung der Ionenstärke in die thermodynamischen oder theoretischen pka-Werte nach Gleichung (4) umgerechnet werden:

$$pka^T = pka' - A\sqrt{I} \quad (15)$$

Diese Gleichung basiert auf Untersuchungen von Debeye und Hückel. Der wichtigste Ausdruck darin ist die Ionenstärke I, definiert als

$$I = 0{,}5 \sum c_i \cdot z^2 \quad (16)$$

C_i gibt die molare Konzentration an, Z die Valenz. Der gesamte Ausdruck -A I ist abgeleitet aus der Formel:

$$-\log fi = \frac{A \cdot z^2 \sqrt{I}}{1+B\, a_i \sqrt{x}} \quad (17)$$

und stellt die vereinfachte Form des Koeffizienten für die Akti-

vität dar. A und B sind Konstanten, die von der Dielektrizitätskonstante und der Temperatur des Lösungsmittels abhängen. Für verdünnte wässrige Lösungen werden empirische Werte angenommen:

$A = 0{,}505 \quad B = ={,}328 \times 10^{8} \quad (20°C)$

Der term a_i ist ein Ionengrössenparameter, für den ein mittlerer Wert von $5X10^{-8}$ eingesetzt wird.

Für 0,01M und Lösungen geringerer Konzentration, sowie 1:1 Elektrolyte vereinfacht sich der Ausdruck zu:

$$-\log f_{\pm}^{1:1} = 0{,}505 \cdot \sqrt{I} \qquad (18)$$

In der Praxis wird eine sehr gute Näherung für den Ausdruck erhalten, wenn man für I die Ionenstärke am Äquivalenzpunkt der Titration einsetzt. I_m beträgt bei einer 0,01M-Titration 0,005. Es ist ersichtlich, daß die Korrektur mit Werten um 0,025 nur sehr kleine Änderungen hervorruft.

Sie ist daher nur sinnvoll, wenn ein pH-Messgerät verwendet wird, welches in kleineren Schritten als 0,005 pH-Einheiten misst.

Da in der obigen Messreihe das pH-Meter auf eine Genauigkeit von 0,02 Einheiten geeicht ist, ist diese Korrektur hier nicht angebracht.

3. Bestimmung der Gesamtlipophilie.

3.1. Grundlagen

Meyer und Overton[10)11)] sowie Collander[12)] kamen schon in den ersten Jahren dieses Jahrhunderts zu der Feststellung, daß die biologische Aktivität eines Arzneistoffes in starkem Ausmaß von

seiner Lipophilie bestimmt wird. Sie fanden, daß z.B. bei Nitellazellen der Stoffdurchtritt durch das Zellmaterial für viele organische Verbindungen eine Funktion ihres Verteilungskoeffizienten ist.

In den 60er Jahren wurden diese Arbeiten von Hansch und Mitarbeitern[13)14)15)] wieder aufgenommen und mit der Untersuchung zweier komplexer Prozesse fortgeführt:

1.) Der Weg eines Pharmakons in einem biologischen System vom Applikationsort zum Wirkort.

2.) Das Auftreten geschwindigkeitsbestimmender chemischer oder physikalischer Reaktionen in Rezeptorarealen.

Der Weg einer Substanz in einem biologischen System und die von ihr ausgelöste Wirkung kann ganz allgemein durch folgende Gleichung beschrieben werden:

Größe des biologischen Effekts

$$\frac{d\ (Effekt)}{dt} = A \cdot C \cdot K_x \quad (19)$$

Darin in A die Wahrscheinlichkeit mit der ein Molekül der Wirkort erreicht, C die extrazelluläre, molare Konzentration und K_x eine Gleichgewichtskonstante. Somit sind A und K_x die bestimmenden Größen für die Effektivität in einer Reihe von biologisch wirksamen Verbindungen.

10) H.Meyer,Arch.Exp.Pathol.Pharmakol.42,110(1899)
11) E.Overton,Studien über Narkose,Fischer,Jena(1901)
12) R.Collanser,Physiol.Plant.7,420(1954)
13) C.Hansch et al,J.Amer.Chem.Soc.85,2817(1963)
14) C.Hansch et al,J.Amer.Chem.Soc.86,1616(1964)
15) Seydel u.Schaper,Chem.Struktur u.biologische Aktivität von Wirkstoffen,Verlag Chemie,Weinheim(1979)

Ausgehend von den Arbeiten von Collander[16] und anderen, sowie von der Überlegung, daß der Weg einer Substanz zum Wirkort von der Passage hydrophiler und lipophiler Barrieren in Form biologischer Membranen sowie von der Verteilung in Körperflüssigkeiten verschiedener Zusammensetzung, abhängig ist, scheint es logisch in obiger Formel den Verteilungskoeffizienten P als experimentelle Größe für A einzusetzen. Für die maximale Wahrscheinlichkeit, eine Substanz am Wirkort anzutreffen, existiert nach Hansch und Mc Farland[17] ein idealer Verteilungskoeffizient P_o. Unter der Voraussetzung, daß die biologische Aktivität " normal verteilt " ist, erhält man für A folgende Beziehung:

$$A = f(P) = a \cdot e^{-(\log P - \log P_o)^2 / b} \quad (20)$$

a und b sind Konstanten.

Eingesetzt in (1) ergibt sich:

$$\frac{d(\text{Effekt})}{dt} = a \cdot e^{-(\log P - \log P_o)^2 / b} \cdot C \cdot K_x \quad (21)$$

Für die Messung biologischer Effekte wird normalerweise ein sogenanntes dosis-variables System verwendet, welches diejenige Dosis bestimmt, die in einer homogenen Reihe von Verbindungen immer den gleichen, standardisierten Effekt auslöst (LD_{50}, ED_{50} MHK u.ä.). Setzt man voraus, daß eine gleiche Zahl molekularer Ereignisse am Rezeptor innerhalb eines festgesetzten Beobachtungszeitraumes einen standardisierten Effekt auslöst, so kann das Differential $\frac{d(\text{Effekt})}{dt}$ als Konstante (C) angesehen werden. C drückt dann die Konzentration aus, die nötig ist um

16) R.Collander, Physiol.Plant. 7, 420 (1954)
17) J.W.Mc.Farland, J.Med.Chem. 13, 1192 (1970)

einen bestimmten Effekt in einer bestimmten Zeiteinheit auszulösen. Nach Logarithmierung der Gleichung (3) und der Zusammenfassung der Konstanten erhält man daraus Gleichung (22):

$$\log \frac{1}{C} = -W(\log P)^2 + W_1 \log P \cdot \log P_o - W_2 \log (P_o)^2 + \log K_x + W_3 \quad (22)$$

W, W_1, W_2, W_3 sind Konstanten.

Log P_o ist in dieser Gleichung der ideale Verteilungskoeffizient, bei dem die Änderung der freien Energie beim Durchtritt durch Membranen ein Minimum durchläuft. Er ist damit innerhalb einer homologen Serie konstant. Die Gleichgewichtskonstante K_x hängt linear von P ab.

Mit diesen beiden Bedingungen vereinfacht sich Gleichung (22) zu (23):

$$\log \frac{1}{C} = -W (\log P)^2 + W_2 \log P + W_3 \quad (23)$$

Bestimmt man die Konstanten über eine Regressionsanalyse, so erlaubt die Formel quantitative Aussagen über die Beziehung zwischen Lipophilie und Wirksamkeit.

Die zweite Möglichkeit einer Einflußnahme der Lipophilie auf die Arzneimittelwirkung zu dokumentieren, bieten die Überlegungen zur Eiweißbindung bzw. zum Ablauf physikochemischer Reaktionen im Rezeptorbereich. Die Annäherung eines Pharmakons an einen Rezeptor wird durch die verschiedensten chemischen und physikalischen Bindungsverhältnisse bestimmt. Diese richten sich nach Art der zur Verfügung stehenden, bindenden Gruppen sowie deren stereochemischen Eigenschaften. Die Bindungstypen lassen sich einteilen in Ihre Bindungsenergien, sowie die Reichweiten ihrer Bindungskräfte.

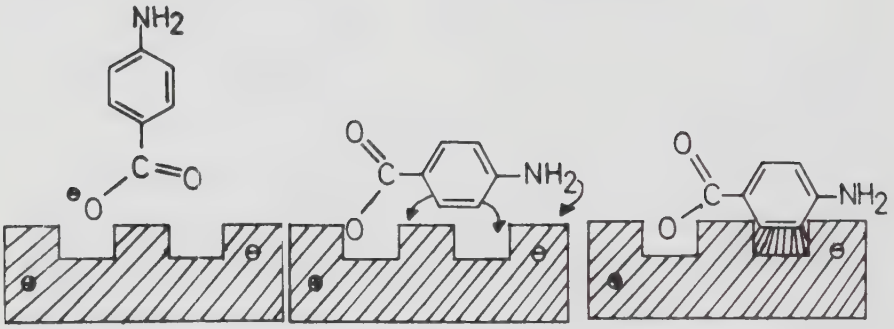
Tabelle 4*:

Typ	Bindungsenergie (KJ/mol)	Reichweite
Hydrophobe Wechselwirkung	-4,0	klein
Ionenbindung	-2,0	groß
Verstärkte Ionenbindung	-4,0	groß
Ion-Dipol Bdg.	-(4-30)	groß
Wasserstoff-brücken	-(4-30)	klein
Van-der-Wals Wechselwirkung	-(2-4)	klein
Charge transfer	-(4-30)	klein
Kovalente Bdg.	-(160-450)	klein

* Die Tabelle wurde entnommen aus Kutter, Arzneimittelentwicklung, Thieme Verlag Stuttgart (1979).

Die Tabelle 4: zeigt die Abhängigkeit der Bindungskräfte von den intermolekularen Abständen. Es kann daher angenommen werden, daß bei der Annäherung eines Pharmakons an einen Rezeptor die einzelnen Bindungsarten in unterschiedlicher Reihenfolge an der Bindung beteiligt sind.

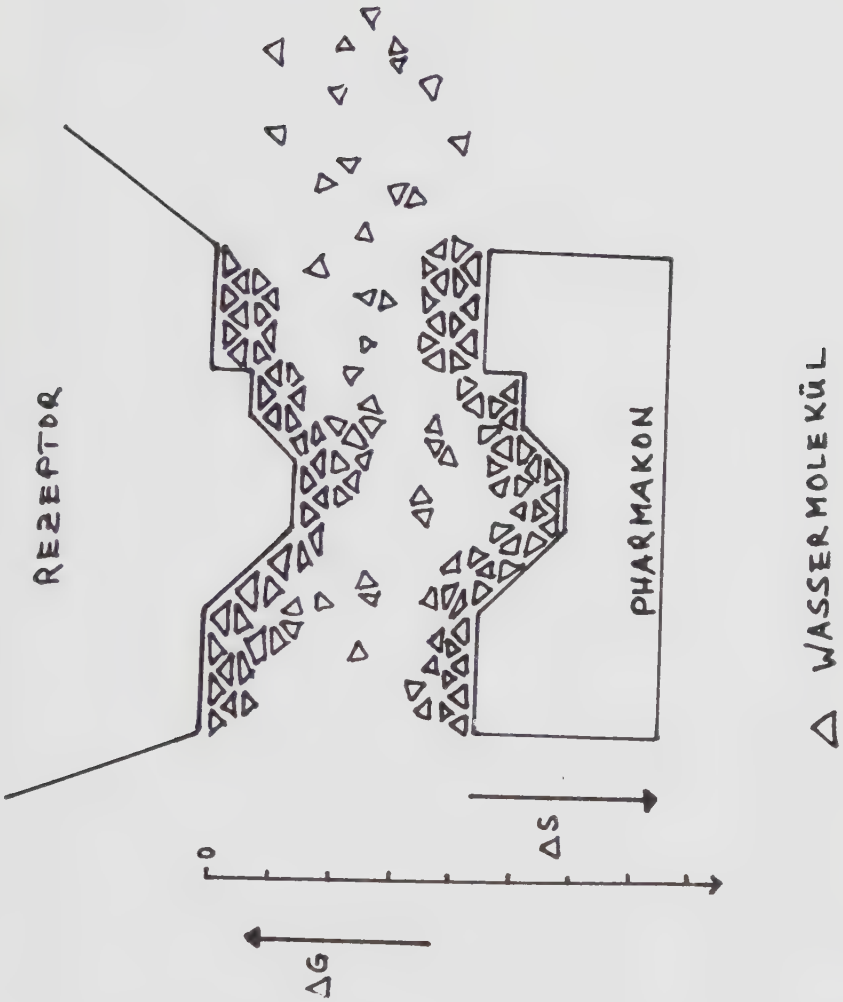
Abb.4):



Im Nahordnungsbereich 2 des Rezeptors wird die Fixierung und Ausrichtung des Pharmakons zum großen Teil von der sogenannten hydrophoben Bindung bestimmt. Sie ist kein neuer Bindungstyp sondern eine Interpretationsmöglichkeit der Van-der-Wal's-kräfte bei einem Bindungsvorgang.

Das Prinzip der hydrophoben Bindung zeigt sich darin, daß unpolare Gruppen in wässrigen Lösungen die Tendenz zeigen Aggregate zu bilden. Abb.

Lagert sich eine unpolare Substanz, die von einer Solvathülle umgeben ist, an eine unpolare Stelle an, so werden die zwischen beiden Gruppen streng geordneten Wassermoleküle verdrängt und gehen in einen ungeordneten Zustand über. Dieser Übergang vergrößert die Entropie des Systems und führt zu einem Energiegewinn. Für jede CH_2.... CH_2- Interaktion kann dieser mit etwa 3,0 KJ/Mol angenommen werden. (Abb. 5)



Die Abb.5) zeigt die Ausbildung einer hydrophoben Bindung nach Korolkovas, Grundlagen der molekularen Pharmakologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974

Die gleichen Verhältnisse die sich beim Übergang eines Pharmakons aus dem wässrigen Milieu in den lipophilen Rezeptorbereich abspielen, lassen sich in vitro bei der Verteilung einer Substanz zwischen zwei nicht miteinander mischbaren Lösungsmittel simulieren.

Durch den Wechsel in die organische Phase wird die Solvathülle der Molekel zerstört, es resultiert ein Energiegewinn, bzw. ein Verlust an freier Energie, der ein Ablaufen der Reaktion begünstigt.

Arbeiten, die für die Richtigkeit dieser Theorie sprechen, sind in der Literatur zu finden[18)19)]:

z.B. die Zusammenhänge von hydrophober Bindung und Verteilungskoeffizienten an verschiedenen Pharmaka wie Penicillin, Acridinderivate und Steroidhormone.

Lien, Hansch und Anderson[20)] haben gezeigt, daß die Wirkung antibakterieller Substanzen auf grampositive und gramnegative Mikroorganismen entscheidend von der Lipophilie der Verbindungen beeinflusst wird. Dabei wurde zur Beschreibung der Abhängigkeit die typische Form der Gleichung (23) verwendet. Für die Testung von Resorzinmonoethern an S. thyphosa ergibt sich beispielsweise folgender Zusammenhang:

$$\text{Log PC} = -0{,}180\ (\log P)^2 + 1{,}628 \log P - 1{,}777 \quad (24)$$

18) E.J.Ariens,Drug design,Vol I Academic Press New York, London(1972)
19) W.Scholtan, Arzneimittelforschung 5,505(1968)
20) E.Lien,C.Hansch,S.M.Anderson,J.Amer.Chem.Soc.11,430(1967)

Die Gleichung wird über eine Regressionsanalyse nach dem Prinzip der kleinsten Fehlerquadrate errechnet. Die Rechnung überprüft dabei den Zusammenhang zwischen der biologischen Wirkung (z.B. ED_{50},MHK) und den physikochemischen Eigenschaften der Substanz, hier der Lipophilie der Resorzinmonoether.
Als Ergebnis erhält man eine Kurvengleichung, die in diesem Fall eine quadratische und lineare Abhängigkeit von P angibt. Die Güte des Zusammenhangs wird durch den Korrelationskoeffizienten bestimmt.
Aussagen über die Lipophilie eines Moleküls innerhalb einer homologen Reihe können noch spezifiziert werden durch die Verwendung der Substituentenkonstanten π
Hansch und Mitarbeiter haben sie definiert als den Logarithmus des Quotienten aus dem Verteilungskoeffizienten des substituierten Derivates und dem der Ausgangsverbindung:

$$\pi = \log \frac{P_x}{P_H} \qquad (25)$$

π charakterisiert somit den lipophilen Beitrag eines einzelnen Substituenten am Molekül. π ist physikalisch definiert als Maß für die freie Energieänderung beim Übergang einer derivatisierten Verbindung von einer Phase in die andere.
Beispielsweise bedeutet ein π-Wert von 0,71 für Chlor, daß der Logarithmus des Verteilungskoeffizienten eines bestimmten Grundsystems um 0,71 Einheiten ansteigt, wenn ein Wasserstoffatom durch Chlor ersetzt wird.
Die allgemeine Anwendbarkeit der Konstanten π kann gezeigt werden, wenn sie analog log P in Gleichung (22) bzw. (23) eingesetzt wird.

Es ergibt sich folgende Formel:

$$\log \frac{1}{C} = -W \pi^2 + W_1 \pi \cdot \pi_o - W_2 \pi_o^2 + \log K_x + W_3 \quad (26)$$

π_o symbolisiert hier den idealen π-Wert, bei dem eine maximale Wahrscheinlichkeit für das Auftreten des Pharmakons am Wirkosrt erwartet wird.

Für ein großes π_o vereinfacht sich Gleichung (27) zu:

$$\log \frac{1}{C} = a \cdot \pi + b \quad (28)$$

Zusammenhänge dieser Form sind ebenfalls von Lien, Hansch und Mitarbeitern am Beispiel von antibakteriell wirksamen Stoffen gefunden worden. Für die Testung von 1-Aryl-2-nitropropanonen und Derivaten an S. aurens wurde als bester Zusammenhang , der Gleichung (28) entsprechend erarbeitet:

$$\log \frac{1}{C} = 0{,}746\ \pi + 1.384 \quad (29)$$

(8) wird nach dem bereits oben beschriebenen Regressionsverfahren erhalten. Sie zeigt den Anstieg der antibakteriellen Wirkung in dieser Reihe, die mit steigenden π-Werten der Substituenten größer wird.

Gleichung (28) ist für komplexe Strukturen unspezifisch, da 70% der biolcgischen Wirksysteme mit dieser Gleichung beschieben werden können. Andererseits dokumentiert sich dadurch sehr anschaulich welchen Einfluss die Lipophilie eines Moleküls auf Transport- und Wirkmechanismen in biologischen Systemen hat.

3.2. Bestimmungsmethoden für die Lipophilie.

Zur experimentellen Erfassung der Lipophilie bedient man sich zweier Methoden. Das klassische Verfahren beruht auf der Bestimmung des Verteilungskoeffizienten. Eine weitere Möglich-

keit besteht in der Messung des Rm-Wertes, einer Größe, die dem Verteilungskoeffizienten proportional ist.

3.2.1. Der Verteilungskoeffizient.

Der Verteilungskoeffizient kann auf mehrere Arten bestimmt werden. Alle Verteilungsexperimente folgen jedoch dem Nernst'schen Verteilungssatz. Eine Substanz, die einem System zweier nicht miteinander mischbarer Flüssigkeiten beigegeben wird, verteilt sich in einem bestimmten Verhältnis zwischen den beiden Phasen, welches u.a. vom Volumen der flüssigen Phasen abhängig ist. Für den Gleichgewichtszustand gilt:

$$\frac{C_A}{C_B} = \text{konst (K)} \qquad (30)$$

Die Konstante (K) wird als Verteilungsverhältnis oder als Verteilungskoeffizient bezeichnet. Sie gilt für organische Substanzen nur in Lösungen ($< 0{,}1$M), bei denen die Aktivitäten vernachlässigt werden können.

3.2.1.1. Erfassung des Verteilungskoeffizienten durch Ausschütteln.

Das auch heute noch am häufigsten angewandte Verfahren zur Erfassung des Verteilungskoeffizienten, bedient sich der Ausschüttelmethode. Für die Verteilung wird dabei meist das System Octanol/Wasser gewählt, da es auf Grund seiner Ähnlichkeit zu biologischen Systemen, als eines der besten in der Arzneistoffplanung gilt. Von der zu verteilenden Substanz wird eine möglichst verdünnte Lösung in octanolgesättigtem Wasser oder in Pufferlösung hergestellt und deren Konzentration bestimmt. Die Sättigungsgrenzen dürfen nicht erreicht werden. Ein bestimmtes

Volumen der Wasserphase wird dann mit einem definierten Volumen wassergesättigtem Octanol geschüttelt. Die Schütteldauer kann bis zu 24h betragen, wobei zu heftiges schütteln zur Emulsionsbildung führt. Um die Phasen nach der Gleichgewichtseinstellung völlig zu trennen, empfiehlt es sich die Wasserphase zusätzlich zu zentrifugieren.

Zur Messung der Konzentration im wässrigen Medium eignet sich besonders die UV-spektroskopische Methode. Bei sehr hohen oder sehr niedrigen Verteilungskoeffizienten, wie sie zum Beispiel bei schwerlöslichen Verbindungen zu beobachten sind, treten keine signifikanten Extinktionsänderungen auf, bzw. E wird sehr klein und folgt damit nicht mehr Lambert-Beer'schen Gesetz. Als Ausgleich muß in diesen Fällen das Volumenverhältnis geändert werden. Diese Änderung wird in einem oder mehreren Korrekturfaktoren in der Ausrechnung berücksichtigt.

Durch Subtraktion der gemessenen Werte von der Ausgangskonzentration erhält man schließlich der Wert C_o für die Konzentration in der organischen Phase bzw. C_w für die wässrige Phase. $\frac{C_o}{C_w}$ ergibt den gesuchten Verteilungskoeffizienten.

Das Ausschüttelverfahren hat neben einer relativ langen Versuchszeit auch rein experimentelle Schwierigkeiten, z.B. Emulsionsbildung, meßtechnisch schwer zu erfassende Konzentrationsänderungen, oder schwer einzuhaltende Temperaturkonstanz.

3.2.1.2. Bestimmung des Verteilungskoeffizienten durch Titration.

Um die experimentellen Schwierigkeiten der Ausschüttelmethode zu umgehen, und die Verteilungskoeffizienten u.U. exakter zu erfassen, erfolgt in der vorliegenden Arbeit deren Messung durch Titration im Zweiphasensystem. Die Versuchsordnung ist dieselbe, die für die Bestimmung der pka-Werte verwendet wurde.
Nach dem dort beschriebenen Verfahren (s.S. 22) erhält man die scheinbaren Dissoziationskonstanten. Diese sind in einem Zweiphasentitrationssystem vom Verteilungskoeffizienten abhängig. Kaufman und Koski [9] haben die Bestimmung der pka-Werte im wässrigen und gemischt wässrig-organischen Milieu verglichen und sind zu einer Beziehung zwischen P und pka gekommen:

$$P = \frac{V_W \ (\text{antilog} \triangle\text{pka} - 1)}{V_0} \qquad (31)$$

(31) läßt sich aus dem Massenwirkungsgesetz sowie aus der Henderson-Hasselbalch'schen Gleichung ableiten:

$$pH = pka + \log \frac{C_{undiss}}{C_{diss}} \qquad (32)$$

$$K_a = \frac{C_{B^-} \cdot C_{H^+}}{C_{BH^+}} \qquad (33)$$

Für den Fall $C_{diss} = C_{undiss}$ entsprechend " halber Neutralisation " ist im rein wässrigen System Pka = pH. Beim vorhandensein einer nicht mit Wasser mischbaren organischen Phase wird der undissoziierte Anteil jedoch in diese Phase verteilt.
Bei 50 % Neutralisation ist dann die Menge $\left[BH^+\right]$ im Wasser gleich der Menge an freier Base im Wasser plus der Menge an freier Base in der org. Phase.

$$V_w \left[BH^+\right] = V_w \left[B_w\right] + V_o \left[B_o\right] \qquad (34)$$

Diese Beziehung kann in (32) eingesetzt werden und ergibt:

$$pH = pka + \log \frac{V_w \left[B_w\right] + V_o \left[B_o\right]}{V_w \left[B_w\right]} \quad (35)$$

Führt man für den Ausdruck $\frac{B_o}{B_w}$ den Verteilungskoeffizienten P ein und formt um, so erhält man (36)

$$pH = pka + \log 1 + \frac{V_o}{V_w} p \quad (36)$$

(36) kann aus (32) und (34) wie folgt entwickelt werden:

$$K_a = \frac{V_w \left[B_w\right] \left[H^+\right]}{V_w \left[BH^+\right]} \quad (37)$$

$$K_a = \left[H^+\right] \frac{V_w \left[B_w\right]}{V_w \left[BH^+\right]} \quad (38)$$

Durch Logarithmierung erhält man:

$$pH = pka - \log \frac{V_w \left[B_w\right]}{V_w \left[BH^+\right]} \quad (39)$$

Dieser Ausdruck wird umgeformt zu:

$$pH = pka + \log \frac{V_w \left[BH^+\right]}{V_w \left[B_w\right]} \quad (40)$$

Da, wie oben beschrieben $V_w \left[BH^+\right] = V_w \left[B_w\right] + V_o \left[B_o\right]$ (34) ergibt sich nach Einsetzen dieses Ausdruckes in (40) folgende Gleichung:

$$pH = pka + \log \frac{V_w \left[B_w\right] + V_o \left[B_o\right]}{V_w \left[B_w\right]} \quad (41)$$

Für gleiche Volumina V_o und V_w reduziert sich (36) auf antilog

Δ pka = 1+p

oder

P = antilog Δ pka -1 (42)

Es wird deutlich, daß bei einem Ölzusatz zur Titration in der wässrigen Phase die pka-Werte eine Verschiebung Δ pka erleiden, die vom Volumen der beiden Phasen, sowie vom Verteilungskoeffizienten abhängt.

Johansson und Gustavii erweiterten die Henderson-Hasselbalch'sche Gleichung unter Einbeziehung der Verteilungsvorgänge zu:

$$pH = -\log \left[(1+Kd_A) \times K'_A \right] + \log N_A \quad (43)$$

Darin sind K'_A die beobachtete Dissoziationskonstante und Kd_A der Verteilungskoeffizient. Die Werte des Neutralisationsverhältnisses N_A können direkt aus der Titration entnommen werden.
Aus diesen Größen lässt sich K'_A bestimmen, die Gleichung ist damit auch für den Verteilungskoeffizienten Kd_A lösbar geworden.

Tabelle 5 gibt die, nach diesem Verfahren erhaltenen Verteilungskoeffizienten an:

Tabelle 5:

Verbindung	Nr.	Verteilungs-koeffizient
4-OCH_3	(5)	208335,66
4-J	(7)	52635,52
4-CH_3	(11)	34485,40
unsubst.	(3)	144929,71
cyclohexyl-	(24)	28573,57
3-Cl	(8)	17649,19
4-Cl	(6)	22224,16
4-Br	(2)	163936,77
2-OCH_3	(10)	192310,46
4-OH	(4)	169493,66
2-Cl	(9)	38464,35

Es gilt nun zu prüfen, ob diese Werte mit Messergebnissen übereinstimmen, welche nach anderen Verfahren erhalten werden. Eine numerische Übereinstimmung kann nach Scholtan[21] und nach Reese[22] ohnehin nicht erwartet werden, da die Verteilungskoeffizienten nur mit dem System vergleichbar sind, in dem sie bestimmt werden. Dies kann durch Variation der lipophilen Phasen demonstriert werden, wie folgendes Beispiel für Ephedrin zeigt:

Organische Phase	Verteilungskoeffizient
Mineralöl	0,18
Cyclohexan	0,34
Baumwollsamenöl	1,03
Erdnussöl	1,32
Castoroil	3,76

Es wird deutlich, daß vergleichende Aussagen über Verteilungskoeffizienten nur im gleichen System bei gleichen Meßmethoden gemacht werden können. Die stark streuenden Werte zeigen, daß es problematisch ist, die in vitro Meßverfahren für P-Werte ohne Vorbehalte in Analogie zu biologischen Systemen zu setzen. Um einen größenordnungsmäßigen Vergleich zwischen beiden Methoden (Ausschüttelung und Titration) zu erhalten, wird der Verteilungskoeffizient mit Hilfe der Ausschüttelmethode bestimmt.

Als organische Phase dient wassergesättigtes Methylenchlorid p.a. Die Werte, die in der Wasserphase gerade noch sinnvoll UV-spektroskopisch erfasst werden können, liegen bei einer Konzentration von $3{,}52 \times 10^{-5}$ g/l.

21) W.Scholtan,Arzneim.Forschg.5,505(1968)

Dies entspricht bei einer Gesamteinwaage von 2,7 g/l einem P-Wert von 4.687.500,0.

Dieser Wert liegt um mehr als eine Zehnerpotenz höher, als der durch Titrationsversuche gewonnene. Die Abweichung kann jedoch, auch unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Meßmethoden, nach Scholtan[21)] erklärt werden, der für steigende pH-Werte in gleichem Verhältnis fallende P-Werte gefunden hat.

Während bei der Schüttelmethode im neutralen Bereich (pH 7-8) gearbeitet wird, liegt der mittlere pH-Wert bei den Titrationen bei 4.

3.2.2. Bestimmung der Rm-Werte.

Eine moderne Variante der Erfassung lipophiler Substanzeigenschaften ist die Möglichkeit ihrer Bestimmung aus den Rf-Werten von Dünnschichtchromatogrammen. Dabei wird die Technik der " reversed phase " - Chromatographie angewandt.

Die Bestimmung eignet sich besonders für Substanzen die schlechte Wasserlöslichkeit aufweisen, oder von denen nur geringe Mengen verfügbar sind.

Dazu werden Dünnschichtplatten mit Kieselgelauflage mit einer 5prozentigen Paraffinlösung in Hexan imprägniert.

Man erhält so eine organisch-flüssige Phase, die in der Kieselgelschicht inkorporiert ist. Zwischen dieser und der wässrigen mobilen Phase findet nun eine Verteilung statt, deren Gleichgewichtskonstante stoffspezifisch ist. Von diesen Verteilungsvorgängen hängt damit auch der auf der Platte direkt meßbare Rf-Wert ab.

22) Reese et al., J.Pharm.Sci. 53, 591 (1964)

In der Praxis dient als mobile Phase ein wässriger Puffer (pH 7) in Mischung mit verschiedenen Mengen eines organischen Lösungsmittels (meist Aceton, ober auch Dioxan oder Ethanol zur Verbesserung der Löslichkeit).

Die Substanzen werden wie bei den herkömmlichen dünnschichtchromatographischen Verfahren aufgetragen, die Platten in den verschiedenen konzentrierten Mischungen entwickelt und die Rf-Werte der Verbindungen gemessen. Trägt man die erhaltenen Werte als Funktion der Aceton-Konzentration auf, so erhält man für jede Substanz eine charakteristische Kurve, die sich einem maximalen Endwert nähert.(Abb.6)

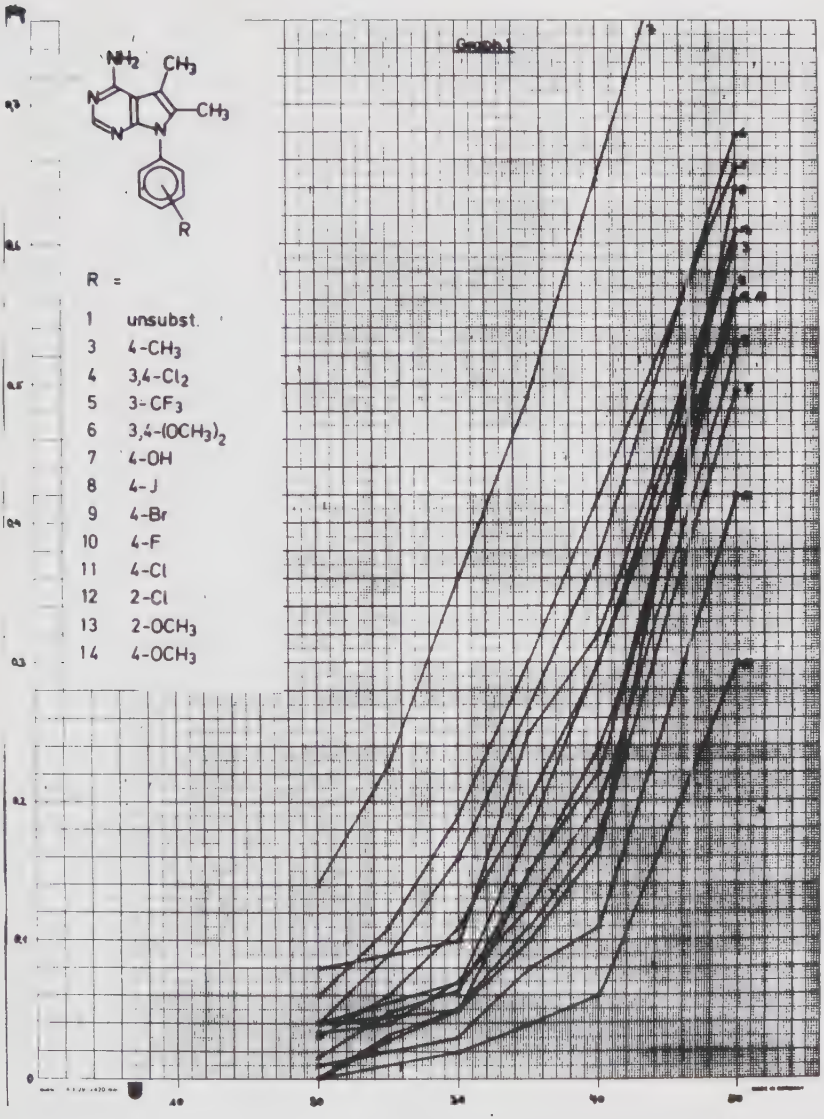
Um die Kurven zu linearisieren, bestimmt man die Rm-Werte, die folgendermaßen definiert sind:

$$R_m = \log \left(\frac{1}{Rf} - 1 \right) \quad (44)$$

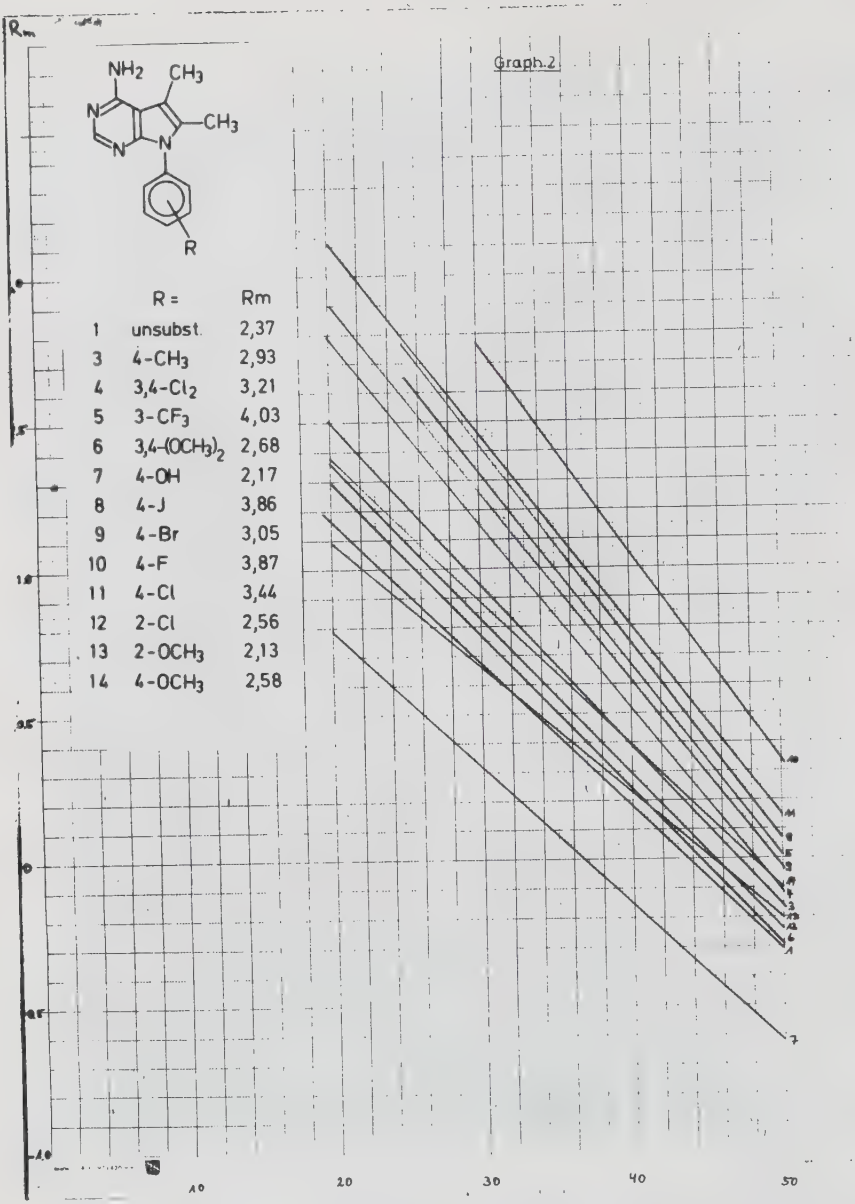
Diese Werte in Abhängigkeit von der Acetonkonzentration aufgetragen, ergeben Geraden mit negativer Steigung.(Abb.7)

Die Anpassung der Geraden erfolgt am genauesten rechnerisch mit Hilfe der Methode der kleinsten Fehlerquadrate. Um einen R_m-Wert für jede individuelle Verbindung unter standardisierten Bedingungen zu erhalten, muss der tatsächliche oder theoretische R_m-Wert bei Acetongehalt Null durch Extrapolation der Geraden bestimmt werden.

Graphisch ergibt sich der Rm_o-Wert als Ordinatenabschnitt. Höhere Rm_o-Werte zeigen höhere Lipophilie an und umgekehrt.



Die Abb.6) zeigt die Auftragung der Rf-Werte gegen die Aceton-konzentration



Die Abb.7) zeigt die Auftragung der Rm-Werte gegen die Acetonkonzentration.

Aus den oben erhaltenen Rm_o-Werten lässt sich in Analogie zu Gleichung (45)

$$\pi = \log Px - \log pH \quad (46)$$

durch Subtraktion des Wertes für das unsubstituierte Molekül von dem der substituierten Verbindung die Substituentenkonstante Rm für das System Paraffin/Wasser als Maß für die Lipophilie einzelner Substituenten errechnen:

$$\pi_{Rm} = Rm\ (\ x\ ) - Rm,\ (\ H\ ) \quad (47)$$

Diese π_{Rm}-Werte korrelieren im vorliegenden Fall sehr gut mit den π-Werten, die durch den klassischen Verteilungskoeffizienten im Octanol/Wasser System erhalten werden.

Vermittels einer Regressionsanalyse werden die gemessenen π_{Rm}-Werte mit den für die jeweiligen Substituenten aus der Literatur entnommenen π-Werten verglichen. Die Rechnung führt zu folgendem Ergebnis:

$$\pi_{Rm} = 0{,}21\pi + 0{,}71 \quad (r = 0{,}98,\ n = 13,\ F_{0,01} = 266{,}78) \quad (48)$$

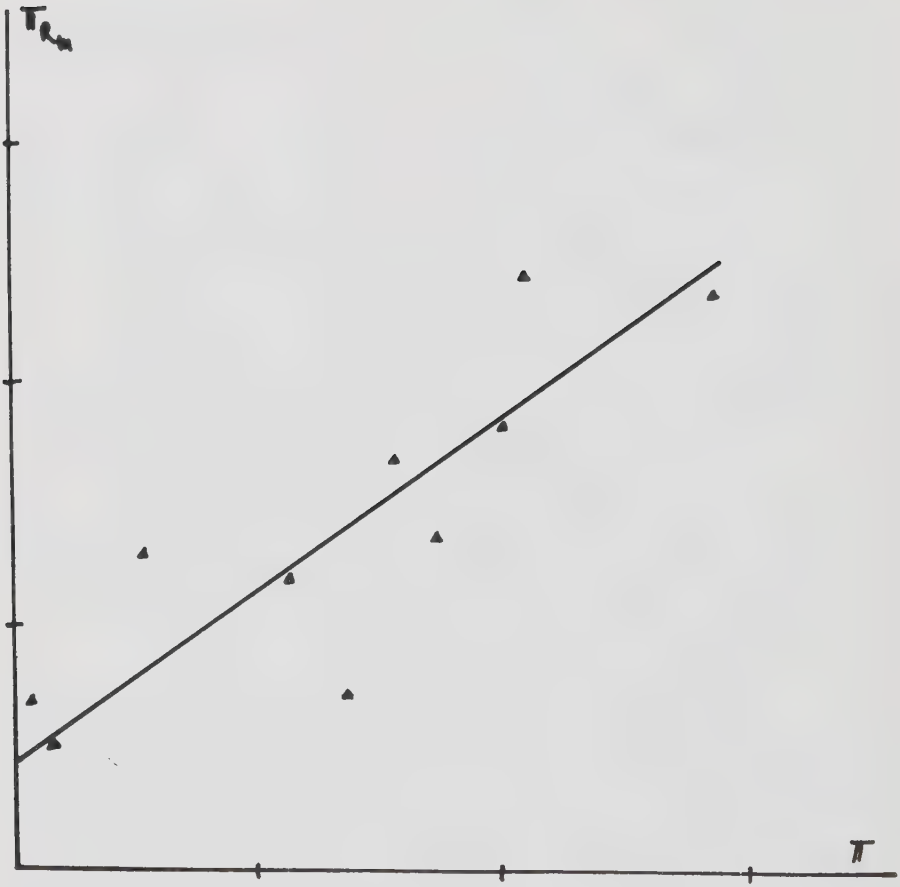
Die graphische Auswertung des Zusammenhangs zeigt Abb.8).

Eine weitere Möglichkeit zur Messung von Rm-Werten ist die Anwendung obiger Methode auf Polyamidplatten.

Die Polyamidplatten-Methode zeigt gegenüber der Entwicklung auf paraffinierten Platten einige Vorteile:

Die eventuell ungleichmäßige und zeitraubende Imprägnierung entfällt, die Platten verschiedener Chargen zeigen geringere Abweichungen.

Die Chromatographie auf Polyamid-beschichteten Platten ist allerdings kein reiner Verteilungsprozeß mehr. Vielmehr spielen hier Wasserstoffbrückenbindungen und vielleicht auch die Aus-



Die Abb.8) zeigt den Zusammenhang zwischen π und π_{Rm}.

bildung von " Charge-transfer "-Komplexen eine Rolle.
Der Verteilungsvorgang beruht also auf anderen physikochemischen Grundlagen als bei der vorgenannten Methode und den in vivo-Bedingungen, so daß dieses Modell weniger den tatsächlichen Abläufen entspricht und deshalb hier nicht angewendet wird.
Man erhält jedoch bei homologen Reihen gleiches Verhalten wie bei der Verteilungschromatographie im " reversed phase "-Verfahren.
Zusammenfassend können folgende Vorteile der Rm-Wert-Methode gegenüber den herkömmlichen Verteilungsmethoden gesehen werden:

1. Einfache und schnelle Durchführung mit bis zu 20 Verbindungen auf einer Platte.
2. Verwendung geringer Substanzmengen.
3. Erfassen der Lipophilie selbst bei sehr hohen oder sehr niedrigen Verteilungskoeffizienten.
4. Auch der Einsatz leicht verunreinigter Substanzen ist möglich.
5. Die quantitative Auswertung entfällt.
6. Sehr gut reproduzierbare Ergebnisse.

Dem stehen nur geringe technische Nachteile gegenüber, wie ungleiche Chargen durch unregelmäßige Paraffinierung oder " Schwanzbildung " der Flecken durch zu hohe Auftragsmengen.
Diese Nachteile sind aber bei einiger experimenteller Erfahrung leicht auszugleichen.

4. Bestimmung des nukleophilen Zentrums durch Acetylierung.

Nach der Erfassung des basischen Zentrums als Ort der Protonierung (Kap.2.3.) wird im folgenden versucht, das nukleophile Zentrum zu bestimmen. Dies geschieht durch Acetylierung.
Als Acetylierungsmittel werden sowohl Acetanhydrid, als auch verschiedene Säurechloride und Isopropenylacetat eingesetzt.
Die Umsetzung gelingt jedoch nur mit dem Säureanhydrid, wobei als Hauptprodukt bisacetylierte 4-Amino-Pyrrolopyrimidine entstehen.
Monoacetalierte Produkte werden nur in geringen Ausbeuten erhalten. Die zweifach Acylierung der Aminogruppe lässt sich anhand des NMR-Spektrum zeigen.(Abb.12)
Als mögliche Erklärung bietet sich eine sterische Mesomeriehinderung an, wie sie in der Literatur mehrfach beschrieben ist[23)].
Danach ist dem freien Elektronenpaar der Aminogruppe im monoacetylierten Pyrrolopyrimidin aus sterischen Gründen die Überlappung mit den p-Orbitalen sowohl der Carbonylgruppe, als auch des Heterocyclus erschwert. Die Nukleophilie bleibt dadurch weitgehend erhalten, sodaß die Anlagerung eines weiteren Acetylrestes begünstigt wird. Eine CNDO/2-Rechnung, die zur Zeit durchgeführt wird,soll weitere Aufschlüsse bringen.

23) F.Klages,Lehrbuch der organischen Chemie, Band II,176
Walter de Gruyter,Berlin 1962

5. Spektroskopische Untersuchungen.

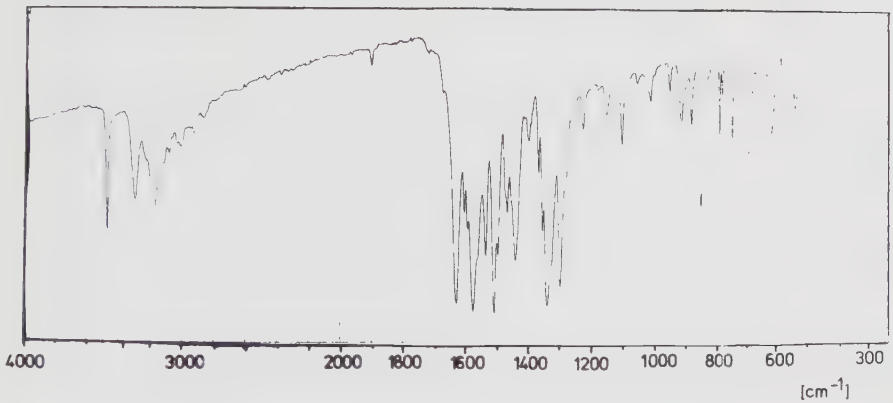
Zur Erkennung charakteristischer Bandenlagen ist es innerhalb einer homologen Reihe einer Substanzklasse sinnvoll, eine möglichst große Zahl von Verbindungen mit Hilfe spektroskopischer Methoden zu charakterisieren. Diese Daten können bei Berechnungen zur Struktur-Wirkungs-Beziehung von Nutzen sein.
Auch in der vorliegenden Arbeit scheinen derartige Untersuchungen sinnvoll, da Issa[24] zeigen konnte, daß durch Variation der Substituenten am Phenylring das Wirkungsspektrum der Pyrrolopyrimidine entscheidend zu beeinflussen ist. Im folgenden werden Infrarot - 1H-und ^{13}C-Kernresonanz-Ultraviolett und Massenspektren beschrieben.

5.1. Infrarot Spektren.

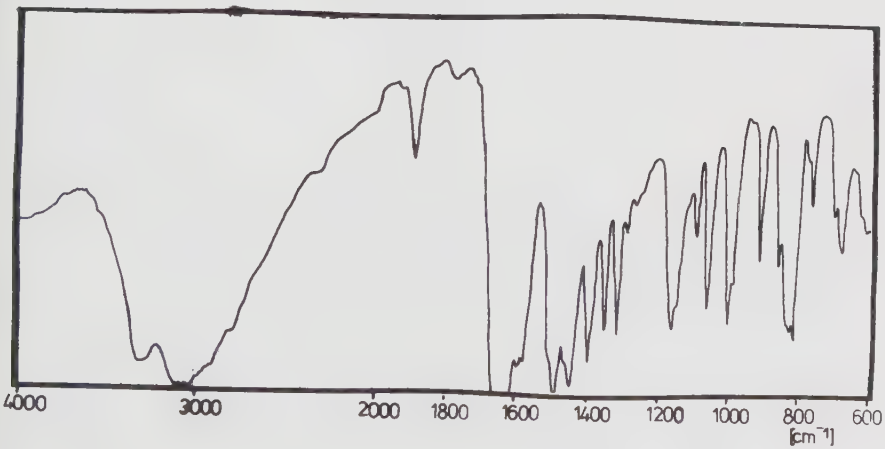
Die Pyrrolopyrimidine zeigen drei charakteristische Banden im Bereich von 3000cm^{-1} bis 3500 cm^{-1}. Davon können die Banden bei 3300 cm^{-1} bzw. bei 3180 cm^{-1} eindeutig der primären Aminogruppe zugeordnet werden. Auffallend ist das dritte Signal bei 3480cm^{-1}, welches bei allen Verbinungen auftritt und damit unabhängig vom Substitutionsmuster ist.
Da die Struktur geklärt und durch andere analytische Methoden abgesichert ist, muß auch diese Bande der primären Aminogruppe zugeordnet werden.
Eine N-H Deformationsschwingung sowie Aromaten-Valenzschwingungen zeigen sich bei 1630cm^{-1} bzw. zwischen 1600cm^{-1} und 1500cm^{-1}. (Abb.9,10,11)
Die Spektren der in 2.1. beschriebenen Salze zeigen allderdings nicht die erwartete Form.

Die typische Ammoniumbande, die das Vorliegen einer NH_3+-Struktur angibt und über einen Bereich von 300-500cm^{-1} verschmiert ist, fehlt. Dies gibt bereits einen Hinweis darauf, daß der Ort der Protonierung nicht in der primären Aminogruppe zu sehen ist, sondern die Protonierung eines der beiden Sp^2-hybridisierten Stickstoffatome angenommen werden muß. Dies ist verständlich, wenn die Aminogruppe als Teil eines cyclischen Amidinsystems betrachtet, bei dem bekanntlich der sp^2-hybridisierte Stickstoff bevorzugt protoniert wird. Ein bekanntes Beispiel ist die Protonierung des Ethacridins[24)25)].

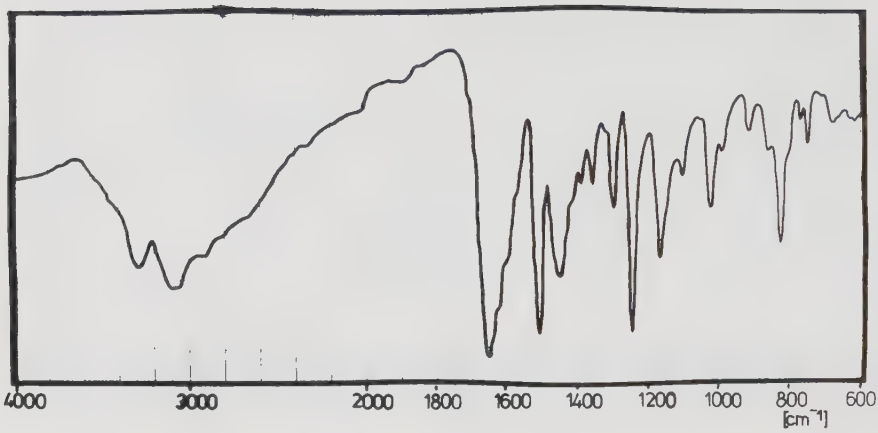
24) S.Issa,Dissertation Bonn, 1978 Referent: H.J.Roth
25) IR 1023 A in Charles I.Pouchert "The Aldrich library of infrared spectra", Aldrich Chemical Company Co.,inc.1970



Die Abb.9) zeigt das IR-Spektrum der para-Nitroverbindung. (Verb.Nr.24)



Die Abb. 10) zeigt das IR-Spektrum des Hcl-Salzes der para-Methoxyverbindung.(Verb.Nr.5)

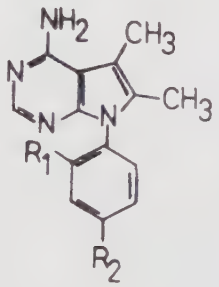


Die Abb.11) zeigt das IR-Spektrum des Hcl-Salzes der para-Brom Verbindung.(Verb.Nr.2)

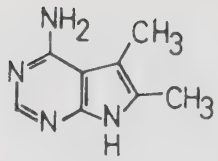
5.2. Ultraviolett-Spektren.

Die Auswertung der UV-Daten einer Verbindung dient einerseits der Charakterisierung der Substanz, sie gibt andererseits wichtige Informationen über den Bindungszustand des jeweiligen Moleküls. Die Lichtabsorption im ultravioletten und sichtbaren Bereich hängt unmittelbar von der Elektronenstruktur der Moleküle ab und steht daher mit den durch die Elektronenhülle bestimmten chemischen und physikalischen Eigenschaften der Verbindung in engem Zusammenhang. Aus diesen Gründen werden für die 4-Amino-pyrrolopyrimidine die UV-Spektren vermessen.

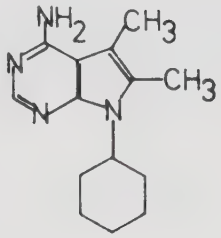
Tabelle 6: zeigt die erhaltenen UV-Daten:



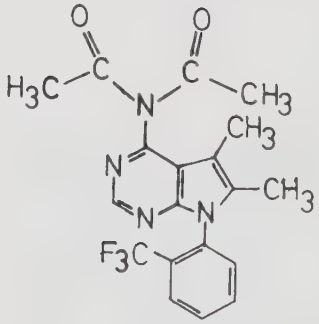
Nr.	R_1	R_2	Maxima (NM)	E_{max} (λ)	ε_{max}
(13)	F	H	207 223 284	0,494 (284)	9957,8
(11)	CH_3	H	208 227 285	0,367 (285)	8484,8
(24)	NO_2	H	207 - 282	0,803 (282)	17086,4
HCl-Salz	Cl	H	207 229 285	0,334 (285)	8882,9
(9)	H	Cl	208 - 280	0,428 (280)	11002,6
(10)	H	OCH_3	208 - 281	0,447 (281)	11744,7
(26)	Br	Br	206 - 280	0,314 (280)	11465,3



Nr.	Maxima (nm)	E_{max} (λ)	ε_{max}
31	107 - 282	0,628 (282)	8478,0



27	208 228 288	0,339 (288)	2420,0



30	206 231 -	0,675 (231)	25442,3

Wie die Tabelle zeigt, ändert sich die Lage der Absorptionsbanden bei den unterschiedlichen Verbindungen kann.
Beim Vergleich der Extunktionskoeffizienten ergeben sich aber starke Unterschiede in den Werten der ortho- und para-substituierten Verbindungen.
Dies lässt auf sterische Wechselwirkungen im Molekül schließen. Eine sterisch bedingte Verdrehung des Konjugationssystems aus einer ebenen Lage führt im Normalfall zu einer kurzwelligen Versowie zu einer Intensitätsabnahme der Banden. Sind die auftretenden sterischen Wechselwirkungen geringer, so kann eine Intensitätsverminderung eintreten, ohne daß die Lage der Absorptionsbanden verändert wird[26].
Da die para-substituierten Verbindungen in diesem Fall die Intensitätsverminderung zeigen, muß angenommen werden, daß der Phenylring mit dem para.Substituenten aus der Molekülebene herausgedreht ist, während es sich bei der ortho-Substitution, mit deutlich höherer Bandenintensität, in der Molekülebene anordnet.
Der Verdrillungswinkel α eines solchen Systems ist der Intensitätsabnahme proportional und kann näherungsweise durch die Beziehung

$$\frac{\varepsilon}{\varepsilon_o} = \cos^2 \alpha \quad (48)$$ ausgedrückt werden.

26) H.A.Staab,Einführung in die theoretische organische Chemie Verlag Chemie, Weinheim,4.Auflage(1975)

$\frac{\varepsilon}{\varepsilon_o}$ ist darin das Verhältnis der Extinktionskoeffizienten einer Verbindung im Grundzustand und einer sterisch gehinderter Verbindung.

Nach dieser Beziehung errechnet sich für die oben angeführte 4-Amino-7.phenyl pyrrolopyrimidine ein mittlerer Verdrillungswinkel von 41°.

Bemerkenswert ist weiterhin, das Fehlen des mittleren Absorptionsmaximums ($\sim$ 230nm) bei den orthosubstituierten Verbindungen, sowie bei der unsubstituierten Verbindung.

Auch das diacetylierte Orthotrifluormethyl-Derivat zeigt das Verschwinden einer Bande bei $\sim$ 280nm.

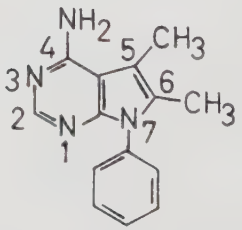
Für diese Phänomene kann bisher keine befriedigende Erklärung gefunden werden.

5.3. Kernresonanz

5.3.1. 1H-NMR

Das Protonenresonanzspektrum der Leitverbindung I, des am Phenylkern nicht substituierten 4-Amino 7-phenyl- [2,3 d] pyrrolopyrimidine zeigt folgende Signale:

$5,6\text{-}CH_3$	2,1 ppm (S)
	2,4 ppm (S)
NH_2-	6,6 ppm (S)
Phenyl-	7,5 ppm (M)
2-H	8,2 ppm (S)



Dabei ist noch nicht geklärt, welches der beiden Signale bei 2,1 ppm bzw. 2,4 ppm, welcher Methylgruppe zuzuordnen ist. Vergleicht man dieses Spektrum mit den Spektren, von Verbindungen, die in Position 7 mit Alkyl-, bzw. mit substituierten Phenylresten verknüpft sind, so läßt sich messen, daß die Lage der 5- und 6-CH_3-Gruppen-Signale nicht konstant ist.

Bei der Suche nach Einflussmöglichkeiten werden mehrere Fälle unterschieden:

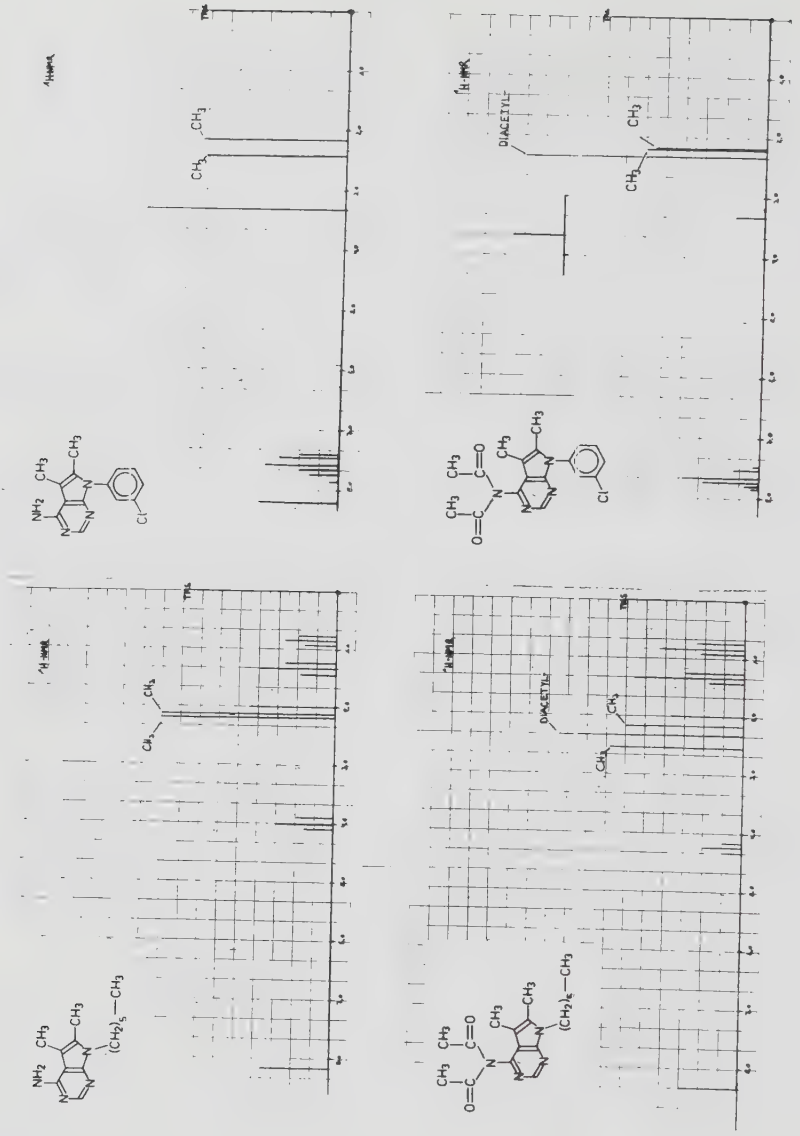
Wird an der Position 7 aliphatisch substituiert, so fallen die CH_3-Gruppen-Signale in einem Peak zusammen. Diese Beobachtung wird beispielsweise bei der 2-Hydroymethyl-Verbindung gemacht. Abb.12) Die Anbindung einer längeren Kette (z.B.-$(CH_2)_5$-CH_3) führt dagegen wieder zu einer geringfügigen Aufspaltung der Signale, was auf sterische oder elektronische Wechselwiekungen zurückgeführt werden kann.

Bei einer Phenylringverknüpfung in 7-Stellung erscheinen die Signale aufgeteilt mit einem Abstand von etwa 0,25 ppm. Ist der Phenylring noch zusätzlich substituiert, so verdoppelt sich die Aufspaltung im Fall einer ortho-Substitution.

Meist kommt es in Abhängigkeit vom Substituenten zur Verschiebung einer Methylgruppe

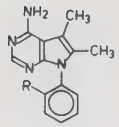
Abb.14a) zeigt den Einfluss der untersuchten ortho-Substituenten am Phenylring auf die Lage der Methylgruppen im Heterocyclus.

Dieser ist umso überraschender, als man anhand des Kalottenmodells zeigen kann, daß die Mehrzahl der Substituenten einer



Die Abb.12) zeigt die Verschiebungen der CH_3-Gruppensignale in Pos. 5 u. 6 in Abhängigkeit vom Substitutionsmuster.

Abb.13) zeigt die Verschiebungen der CH_3-Gruppensignale in Abhängigkeit von der Substitution des Phenylrings.

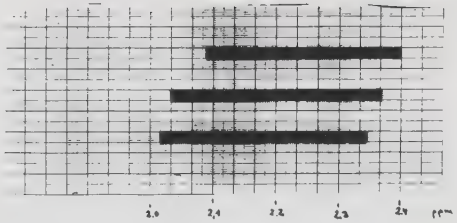


R =

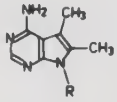
−Br

−CH_3

−OCH_3



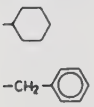
a) bei ortho-Substitution

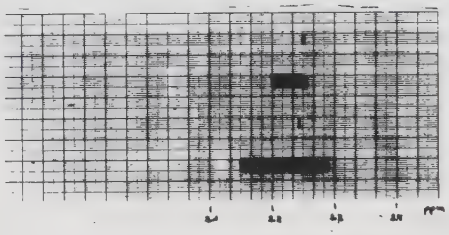


R =

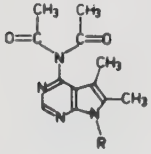
$-CH_2-CH_2-OH$

$-(CH_2)_5-CH_3$



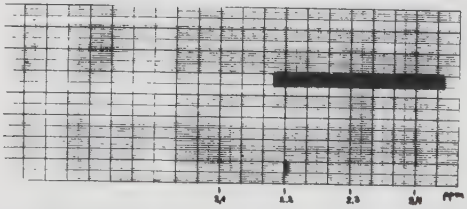


b) bei aliphatischer/gemischter Substitution



R =

$-(CH_2)_5-CH_3$



c) bei aliphatischer/aromatischer Substitution und Bis-acetylierung.

Abb.14) zeigt die Verschiebungen der CH_3 Gruppensignale in Abhängigkeit vom Substitutionsmust.

sterischen Wechselwirkung (Hinderung) mit den Methylgruppen ausweichen können, da sie bis 180° frei drehbar sind.
Sogar die Möglichkeit zur koplanaren Anordnung zum Heterocyclus ist gegeben, wenn sich die Substituenten in ortho-Stellung zum Pyrimidinring hin orientieren. (s.auch CNDO/2-Berechnung sowie Kalottenmodell)
Abb.13) zeigt den Einfluss von meta- und para-substituierten Phenylresten in Postition 7 auf die Methylgruppen in Position 5 und 6.
Im Vergleich zur ortho-Position ist der beobachtete Effekt wesentlich geringer, obwohl die auf den ersten Blick wahrscheinliche koplanare Anordnung und damit die Möglichkeit zur Ausbildung mesomerer Strukturen keinen Beschränkungen unterliegt. Zweifelhaft ist, ob die beobachteten geringen Verschiebungen der Methylgruppensignale, bei meta-bzw. para-Substituenten, Meßungenauigkeiten sind. Nimmt man die Änderungen als signifikant an, müssten sie abhängig sein von den elektronischen Wechselwirkungen, die sich von dem Substituenten ausgehend über den Aromaten auf den Heterocyclus auswirken. Diese Wechselwirkungen werden durch die Substituentenkonstante Sigma (σ) ausgedrückt, die sowohl induktive als auch mesomere Effekte beinhaltet. Unter der Annahme, daß sich der Aromat planar zum Heterocyclus anordnet, werden sich beide Effekte auf das Ringsystem auswirken.
Bei nicht planarer Anordnung werden dagegen nur induktive Effekte das System beeinflussen, welche bei Substituenten in m- bzw. p-Stellung nur geringen Einfluss haben.

Im vorliegenden Fall werden die Verschiebungen einer Methylgruppe im phenylsubstituierten Pyrrolopyrimidin Im Vergleich zur unsubstituierten Pyrrolopyrimidin im Vergleich zur unsubstituierten Phenylverbindung gemessen, und von σ-Werten[27] für den jeweiligen Substituenten abhängig gemacht.

Hier muß angemerkt werden, daß es sich dabei um sogenannte σ^--Werte handelt, die sich für Substituenten errechnen, die direkt an einen aromatischen Kern gebunden sind, während die normalen σ-Werte aus der Dissoziation der Benzoesäure in Abhängigkeit von Substituenten am Kern abgeleitet werden[28]. Hier ist die dissoziierende Gruppe durch eine Carbonyl-Funktion vom Kern getrennt.

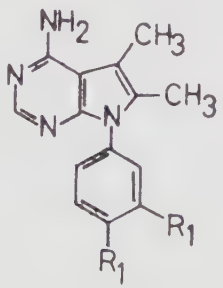
σ würde also im Gegensatz zu σ^- die Verhältnisse für direkt gebundene Substituenten nur ungenau wiedergeben. Tribble and Traynham[29] haben in NMR-Studien an substituierten Phenolen die Verwendung von σ^--konstanten als günstiger beurteilt. Unter der Annahme, daß die Verschiebung der Methylgruppen signifikant ist, indem sich der Aromat koplanar zum Heterocyclus anordnet, müßte die Verschiebung der Methylgruppen demnach in Abhängigkeit zu den σ^--Werten stehen. Aus diesem Grund wird eine Regressionsanalyse durchgeführt.

Tabelle 7 zeigt die gemessenen Abstände.

27) C.Hansch et al,J.Med.Chem.16,1207(1973)
28) DH,Mc Daniel,H.C.Brown,J.org.Chem.23,420(1958)
29) Th.Tribble,J.Traynham,J.Am.Chem.Soc.91,379(1969)

Tabelle 7: Verschiebung einer Methylgruppe der substituierten Verbindung gegenüber der unsubstituierten Verbindung.

Nr.	R_1	R_2	δ CH_3	$\Delta\delta$	σ^-
(12)	$-OCH_3$	$-OCH_3$	2,01	-0,10	-0,54
(4)	H	-OH	2,06	-0,05	-0,37
(2)	H	-Br	2,08	-0,03	+0,23
(13)	H	F	2,10	-0,01	+0,06
(3)	H	H	2,11	--	0
(7)	H	J	2,12	+0,01	+0,28
(14)	J	H	2,12	+0,01	+0,35
(15)	Cl	Cl	2,16	+0,05	+0,046
(8)	Cl	H	2,13	+0,02	+0,37
(16)	CF_3	H	2,15	+0,04	+0,43
(11)	H	CH_3	2,08	-0,03	-0,17



Aus den gemessenen Daten und den σ^--Werten kann ein relativ guter Zusammenhang gefunden werden.

$$\Delta\delta = -0{,}02 + 0{,}12\sigma^- \quad (r=0{,}92,\ n=11,\ F=0{,}01 = 51{,}0) \qquad (49)$$

Um einen Teileffekt von σ^- gezielter beschreiben zu können, haben Swain und Lupton Feldeffekte (F) und Resonanzeffekte (R) aus σ-Werten berechnet.[30]

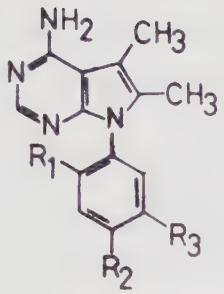
Auch mit diesen Parametern wurde eine Rechnung durchgeführt, sie brachte jedoch keine Verbesserung des Zusammenhangs.

Gegen diese rechnerischen Ergebnisse spricht zunächst die Tatsache, daß im Formelbild keine befriedigende Mesomeriestruktur konstruiert werden kann. Darüberhinaus ist die Größenordnung der Verschiebungen im ^{1}H-NMR mit einem Durchschnittswert von 0,05ppm sehr gering. Dies begründet die Annahme, daß sich der Phenylring nicht planar zum Molekül anordnet, wie auch die Ergebnisse der CNDO/2-Berechnungen zeigen. Der Phenylring wirkt deshalb mit einem mehr oder weniger gleichbleibenden Betrag seines negativen induktiven Effekts elektronenziehend auf den Heterocyclus ein. Der oben gefundene Zusammenhang erweist sich damit als Scheinkorrelation.

Für die ortho-substituierten Verbindungen wird unter denselben Annahmen eine Regressionsanalyse durchgeführt.

30) C.G.Swain and E.C.Lupton,Jr.,J.Amer.Chem.Soc.90,4328(1968)

Tabelle 8:



Nr.	R_1	R_2	R_3	$\Delta\delta$	σ_o
(10)	OCH_3	H	H	0,38	-0,37
(17)	Br	H	H	0,37	0,55
(18)	CH_3	H	H	0,43	-0,13
(19)	OCH_3	H	OCH_3	0,37	-0,37
(20)	CH_3	OCH_3	H	0,42	-0,13
(21)	CH_3	Cl	H	0,40	-0,13
(22)	OCH_3	OCH_3	H	0,40	-0,37

Für diesen Fall konnte kein Zusammenhang zwischen der chemischen Verschiebung $\Delta\delta$ und den σ_o-Werten der Substituenten gefunden werden. Auch die Verwendung von addierten σ-Werten bei disubstituierten Verbindungen sowie die Aufteilung in F- und R-Konstanten verbesserte den Zusammenhang nicht.

($r^2 = 0,03$, $n = 7$)

Die absoluten $\Delta\delta$-Werte sind zwar größer als die der meta- oder para-substituierten Produkte, die Unterschiede zwischen den einzelnen Substituenten sind aber ebenso gering. Dies wäre für

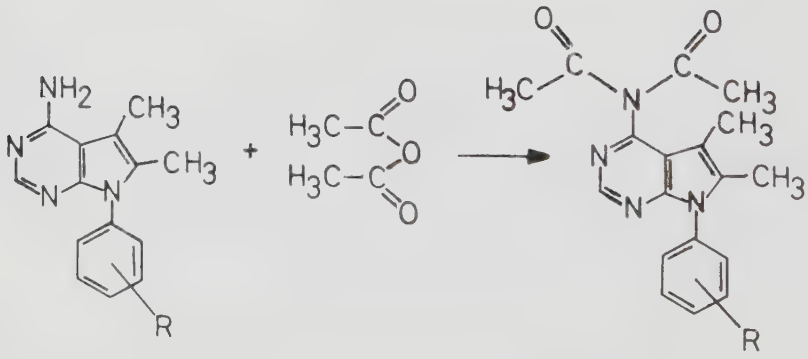
den Fall einer nicht planaren Anordnung des orthosubstituierten Benzolrings zu erwarten.

Wie jedoch die in Kapitel 8 durchgeführten CNDO/2-Berechnungen zeigen, ist die planare Anordnung für den orthosubstituierten Benzolring bevorzugt.

Die CNDO/2-Berechnungen zeigen weiter, daß der Substituent dem N-1 im Pyrimidinring angenähert ist. Er unterliegt dort elektronischen Wechselwirkungen, die den Phenylkern in eine koplanare Stellung " zwingen ".

Dies könnte das Fehlen meßbarer Substituenteneffekte durch den Phenylring zum Heterocyclus erklären. Auch hier übt der Aromat nur einen konstanten induktiven Effekt auf das Gesamtsystem aus. Etwaige Resonanzeffekte der Substituenten sind nicht zu erfassen.

Die bei der Umsetzung der 4-Amino-pyrrolopyrimidine mit Acetanhydrid vorzugsweise erhaltenen Bisacetylierungsprodukte,



zeigen eine völlige Umkehrung der bisher beobachteten Phänomene:

a) wie Abb.14) zeigt, führen Bisacetylierungen in Pos. 4 und ein aliphatischer Rest, in Pos. 7 zur Trennung der Methylgruppensignale,

b) Bisacetylierung in Pos. 4 und ein aromatischer Rest in Pos. 7 lässt die Methylgruppensignale zusammenfallen. Dies ist unabhängig vom Typ des Substituenten am Phenylring.

Die im Fall a) beobachtete Trennung der Signale kann auf den negativen induktiven Effekt der beiden Carbonylgruppen zurückgeführt werden, der sich auf beide Methylgruppen wegen der unterschiedlichen Entfernung verschieden stark auswirkt.

Das Zusammenfallen der Signale im Fall b) bei Aromatensubstitution ist gut mit den o.a. Überlegungen in Einklang zu bringen. Demzufolge wird der negative Induktionseffekt der Carbonylgruppe durch den entgegengesetzt wirkenden negativen Induktionseffekt der Aromaten kompensiert.

In der Zwischenzeit ist es Pichler[31] gelungen die Monoacetylverbindung bei einigen Pyrrolopyrimidinen zu isolieren.

Die auftretenden Verschiebungseffekte stimmen mit den bisherigen Ergebnissen überein, wenn man annimmt, daß der aromatische Substituent in 7-Stellung den geringen induktiven Effekt einer einzelnen Acetylgruppe übertrifft. Beim 7-Phenylprodukt erscheinen im ^{1}H-NMR die beiden Methylgruppen getrennt. Wird monoacetyliert oder bisacetyliert, fallen die beiden Signale zusammen.

31) H. Pichler, geplante Dissertation, Bonn Referent: H.J. Roth

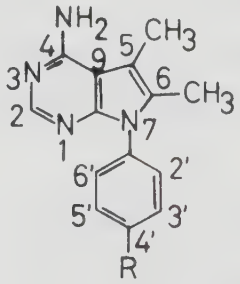
5.3.2. ^{13}C-NMR

Mit Hilfe des ^{13}C-NMR soll versucht werden, den Einfluß des Phenylrings auf die Methylgruppen in den Positionen 5 und 6 abzuklären und den Ort der Protonierung zu bestimmen.

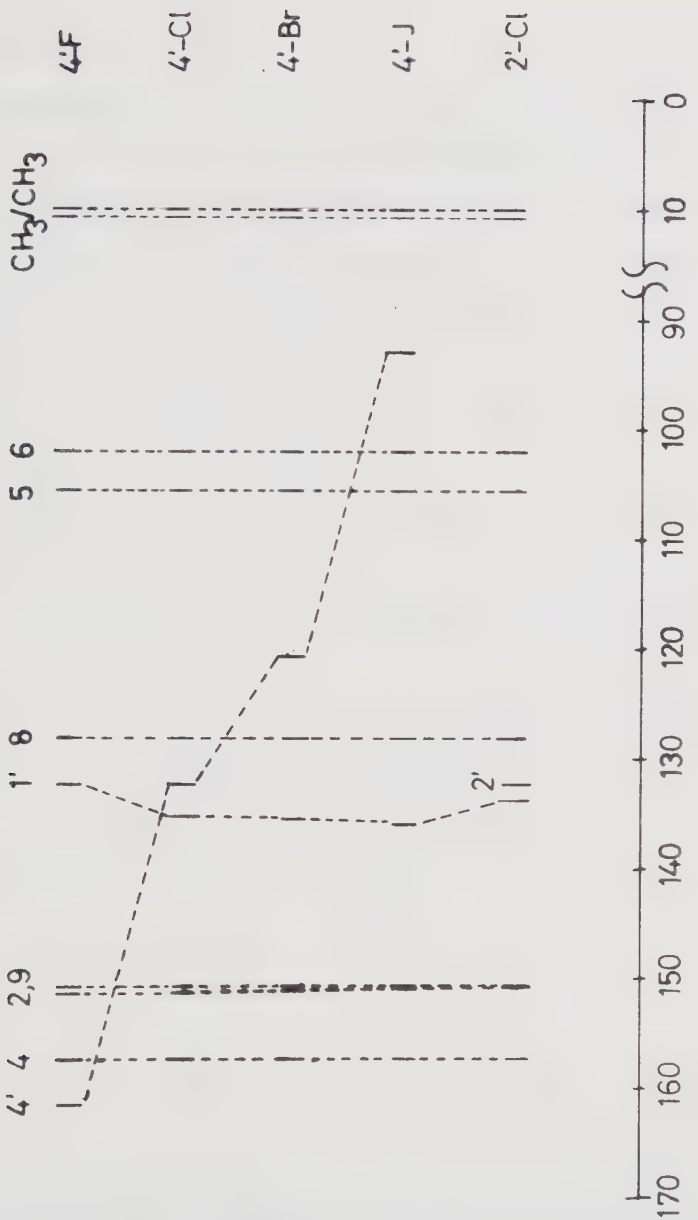
5.3.2.1. Die Analyse der ^{13}C-Daten zeigt keine nennenswerte Beeinflussung der Kohlenstoffatome in den Positionen 5 und 6 in Abhängigkeit von Substituenten am Phenylring.

Die Lage der Signale für diese Kohlenstoffatome ändert sich innerhalb einer homologen Reihe (para-Fluor, para-Chlor, para-Brom, para-Jod) nur um etwa 0,04ppm.

Abb.15)zeigt die Verschiebungen im ^{13}C-NMR



Diese Ergebnisse stimmen nicht mit den im ^{1}H-NMR gefundenen Verschiebungen überein und stehen im Gegensatz zu dem berechneten Zusammenhang zwischen $\Delta\delta$ und σ^-. Sie können allerdings die Rechnung nicht absolut widerlegen, da eventuell minimale Änderungen der Elektronenstruktur von ^{13}C-NMR nicht mehr erfasst werden. Für diesen Fall ist auch aus den ^{13}C-Daten keine endgültige Klärung zu erwarten.



Die Abb.15) zeigt die Verschiebungen der Kohlenstoffatome im ^{13}C-NMR in Abhängigkeit von der Substitution des Phenylrings.

5.3.2.2.

Nicht vollständig geklärt werden kann der Ort der Protonierung anhand der ^{13}C-Kernresonanzdaten.

Aufgrund der starken Hochfelverschiebung des C_2-Kohlenstoffs bei der protonierten Form und der dazu relativ geringen Änderung der Kohlenstoffe C_4 und C_9 scheint jedoch eine Protonierung im Bereich der Atome 1.2.3. wahrscheinlich.

Zum gleichen Ergebnis führte bereits die Analyse der IR-Spektren, bei der die Protonierung der Aminogruppe in Position 4 durch das Fehlen der typischen NH_3^+ Bande ausgeschlossen werden kann.

Als cyclisches Amidin wäre zudem die Protonierung in Position 3 zu erwarten gewesen.

Die CNDO/2-Berechnung in Kapitel 6 bringt dazu weitere Aufschlüsse.

Tabelle der Verschiebungen $\Delta\delta$ (ppm) im ^{13}C-NMR (siehe auch Abb. 15) für die para-F-Verbindung

	Base	Salz	$\Delta\delta$
C_2 (α)	151,16	141,66	-9.50
C_4 (α)	157,24	150,79	-6,45
C_9	150,89	147,67	-3,23
C_8 (β)	128,54	130,60	+2,06

Vergleicht man die Daten der Tabelle mit Ergebnissen, die kürzlich Riley et al[32] sowie Pugmire und Grant[33] gefunden haben, so wird die Annahme, daß der Stickstoff in Position 3 protoniert

wird wesentlich erhärtet. Riley et al haben die ^{13}C-NMR Verschiebungen der 2 Aminoimidazotriazine studiert. Pugmire und Grant haben mit Hilfe der ^{13}C-Kernresonanzspektroskopie unter anderem Benzimidazole und Purine detailliert untersucht.
Sie sind zu folgenden Ergebnissen gekommen:
Ein C-Atom in α-Stellung zum Ort der Protonierung wird hochfeldverschoben während die Kohlenstoffatome in β- und γ-Stellung tieffeldverschoben erscheinen.
Diese " Regel " lässt sich exakt auf die in dieser Arbeit vermessenen Verbindungen anwenden.
Die α-ständigen Kohlenstoffatome C-4 und C-2 Abb.15) werden zu hohem Feld, das β-ständige C-8 Atom zu tiefem Feld verschoben.
Die Protonierung sollte danach bevorzugt am Stickstoff in der Position 3 stattfinden.
Die mit dem Abstand zum Ort der Protonierung geringer werdenden Verschiebungsbeträge sind auf " Störungen " der nicht bestzten Stickstoffe, des Ringsystems zurückzuführen.
Beide Autoren stellen eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse mit den Daten der CNDO/2-Berechnungen fest.

32)J.P.Riley, F.Heatly and Ian Hillier, J.Chem.Soc.II,Perkin 1327(1980)
33)R.J.Pugmire and D.M.Grant,J.Amer.Chem.Soc.,93,1880(1971)

Die Ergebnisse aus 5.3.2.1. lassen vermuten, daß der Aromat nicht die ihm zugedachte entscheidende Rolle in der Elektronenverteilung des Pyrrolopyrimidinsystems spielt. Es kann jedoch in dieser Hinsicht, sowie auch für die Protonierung (5.3.2.2.) noch keine eindeutige Aussage gemacht werden.
Die fehlenden Informationen sollten über eine Berechnung der Ladungsdichten sowie über eine Berechnung der bevorzugten Lösungskonformation zugänglich sein. (Kapitel 6,7)

5.4. Massenspektren

Zur weiteren Charakterisierung der Verbindungen werden ausgewählte Derivate massenspektroskopisch vermessen. Da im Massenspektrum Heteroatome und besonders Halogene typische Fragmentierungen erwarten lassen, werden als Modelle die Isomeren der Br- und Cl-substituierten 7-Phenyl-pyrrolopyrimidine vermessen.
Die para-Chlorverbindung zeigt den Molekülpeak (M^+) bei 272 entsprechend ihrem Molekulargewicht, sowie einen M^+-H Peak geringerer Intensität. Die Isotopenverteilung ist charakteristisch für eine Cl-haltige Substanz.
Darüber hinaus sind keine weiteren Fragmentierungen feststellbar. Die p-Cl-Verbindung ist demnach sehr stabil.(Abb.16)
Gleiche Verhältnisse zeigt das Spektrum des p-Br-Derivats.
Auch hier ist das Halogenatom durch seine charakteristische Isotopenverteilung zu identifizieren; der Molekülpeak liegt entsprechend dem Molekulargewicht bei 316, begleitet von einem M^+-H Peak geringerer Intensität. Weitere Fragmente sind nicht feststellbar.(Abb.17)
Deutlich geringere Stabilität weisen beide ortho-Verbindungen auf.
Das Spektrum des o-Cl-Derivats zeigt einen Peak bei M^+-35 sowie ein Fragment 27 m/e. Diese Werte deuten auf eine Abspaltung von ^{35}Cl und von HCN hin. Das Fragment HCN ist typisch für aromatisch gebundenen Stickstoff wie er auch in den Pyrrolopyrimidinen vorliegt.
Das Spektrum der o-Br-Verbindung ist analog zu dem des o-Cl-Derivats.

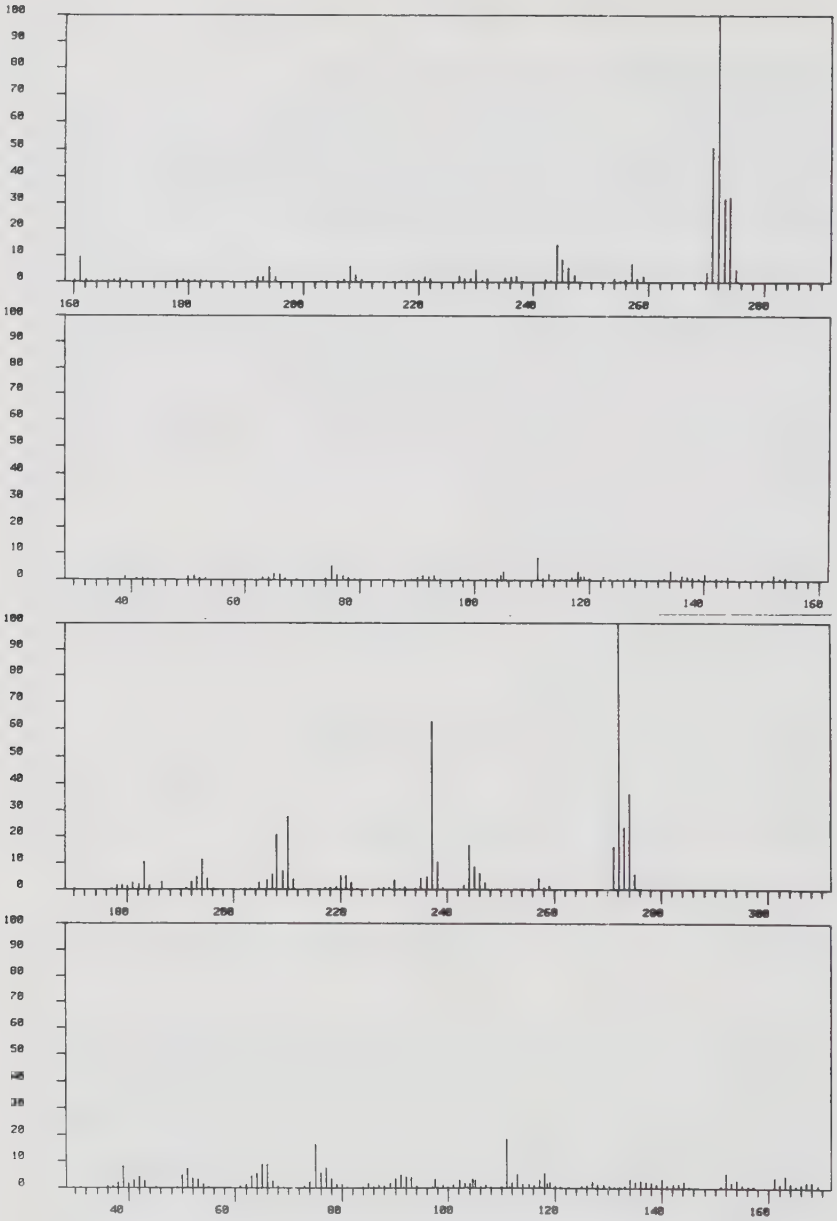


Abb.16) a) zeigt das MS des para-Chlor-Derivats,(Verb.Nr.6)

b) das MS des ortho-Chlor-Derivats.(Verb.Nr.9)

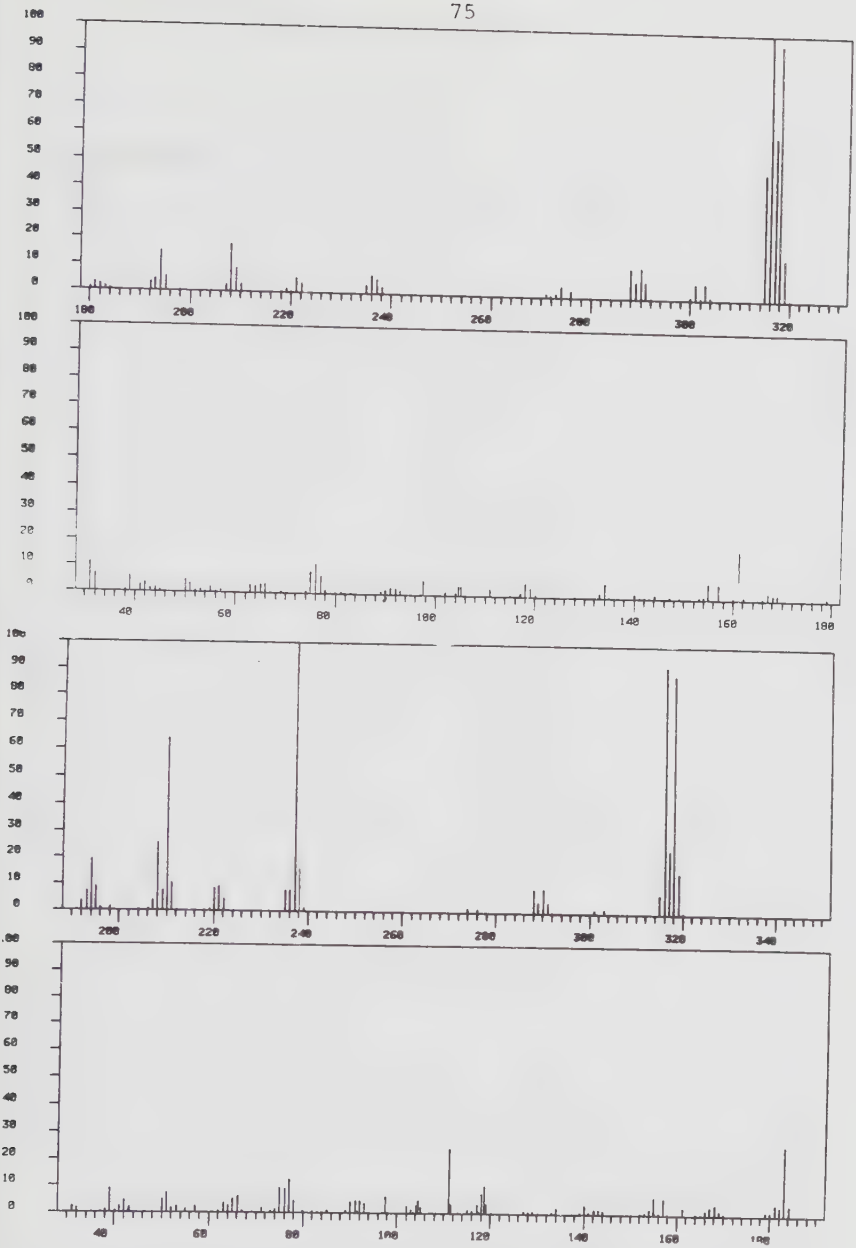


Abb.17) a) zeigt das MS des para-Brom-Derivats,(Verb.Nr.2)

b) das MS des ortho-Brom-Derivats.

Neben einem Fragment 27 m/e wird ein Signal bei M^+-79festgestellt. Das kann auch hier als Abspaltung des Halogens (Brom) wie auch eines HCN-Fragments für den aromatischen Stickstoff interpretiert werden.

Die bevorzugte Enstehung der Halogenfragmente bei den ortho-Isomeren ist erklärbar durch die energetisch günstige Ausbildung eines Rings mit Bindung zwischen der 2'-Position am Phenylring und dem N_1 im Pyrimidinring.

Ensprechend diesem Mechanismus wird auch der bei den p-Verbindungen in geringem Maß auftretende M-H Peak verständlich.

Da jedoch das Wasserstoffatom eine ungünstigere Abgangsgruppe darstellt, als die Halogenatome, wird bei den para-Verbindungen das Ringsystem nur zu wenigen Prozenten ausgebildet.

Das Massenspektrum charakterisiert also eindeutig die ortho- und para-isomeren Halogenverbindungen.

Die hohe Stabilität der Substanzen stimmt überein mit den Ergebnissen die in Kap. 1 gefunden werden.

6. Berechnung der Ladungsdichten.

Zusätzlich zu den spektroskopischen Untersuchungen werden von verschiedenen Verbindungen die Ladungsdichteverteilungen berechnet, um weitere Aufschlüsse über die elektronischen Verhältnisse zu bekommen.

Die Ladungsdichten eines Moleküls stehen in direktem Zusammenhang mit seinem spektroskopischen Erscheinungsbild und ermöglichen daher eine bessere Interpretation der Spektren. Den Rechnungen liegt die CNDO/2-Methode zugrunde. Das CNDO/2-Verfahren (Complete Neglect of Differential Overlap) ist ein semiempirisches quantenchemisches Rechenverfahren, das die Wechselwirkungen aller Valenzelektronen berücksichtigt. Die Ladungsdichte gibt danach eine Wahrscheinlichkeit an, mit der Elektronen in einem Orbital angetroffen werden, wenn zwischen zwei Atomen eine Bindung eingetreten ist.

Die Abb. 18,19)zeigen die Ladungsverteilungen im unprotonierten Molekül mit unsubstituiertem Phenylring (1), im protonierten Molekül mit:

para-Fluor substituiertem Phenylring (2)

ortho-Chlor " " (3)

para-Chlor " " (4)

Die Unterschiede in den Ladungsdichten von unprotonierten zum protonierten Molekül sind nicht sehr groß. Nur die benachbarten Atome im Phenylring unterliegen einer gewissen Beeinflussung. Die Auswirkung der positiven Ladung auf das Gesamtringsystem ist nicht wesentlich.

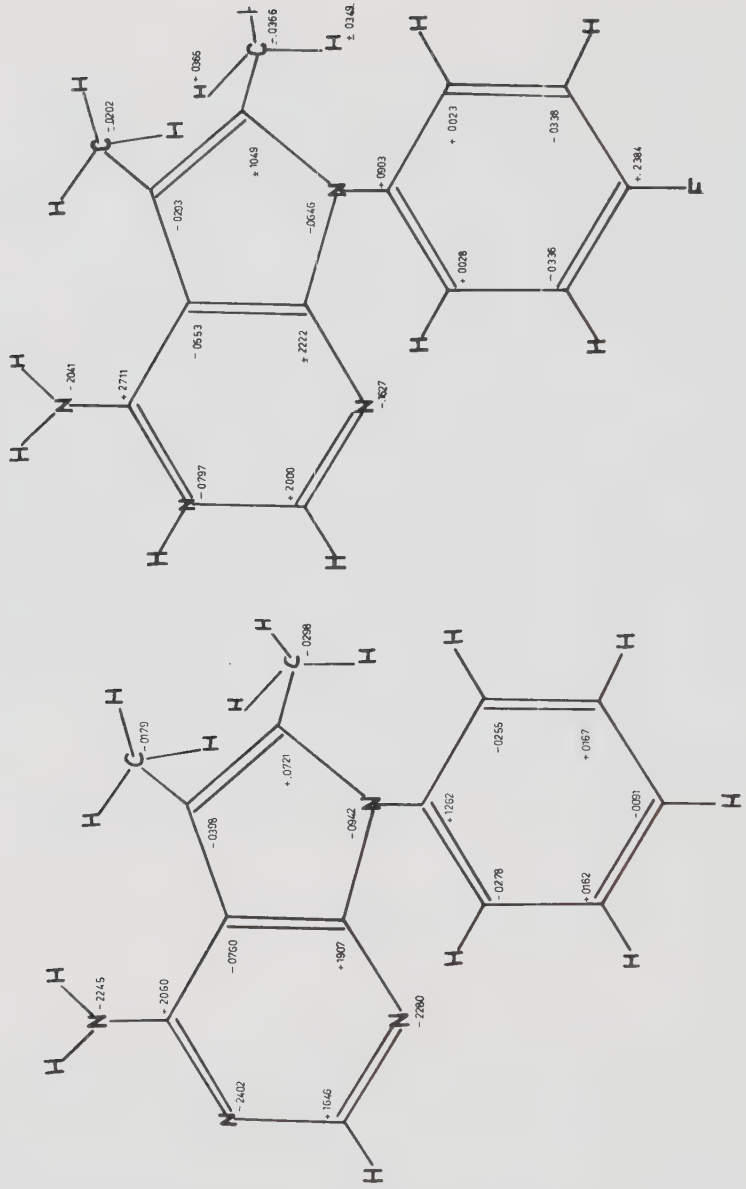


Abb.18) zeigt die Ladungsdichten der protonierten para-Fluorverbindung und der 4' unsubstituierten Verbindung.

Das am Phenylring nicht substituierte Molekül Abb.18) zeigt starke Ladungsunterschiede an den Kohlenstoffatomen 5 und 6, sowie an den damit verknüpften Methylgruppen. Dies liefert eine gute Erklärung für die unterschiedliche Verschiebung der Methylgruppen im ^{1}H-NMR und ^{13}C-NMR. Die Substitution des Phenylrings in para-Stellung zeigt einen messbaren Ladungsunterschied zum unsubstituierten Molekül. Die Differenz ist jedoch zu gering, um daraus auf eine direkte Beeinflussung des Pyrrolrings durch den jeweiligen Substituenten schliessen zu können. Entscheidende Unterschiede sind bei der Betrachtung der ortho-Cl-Verbindung Abb.19) feststellbar. Die negative Ladung des Cl-Atoms in dieser Position ist nahezu verdoppelt im Vergleich zur para-Stellung. (Abb.19)

Der N_1-Stickstoff im Pyrimidinring trägt nur noch die Hälfte seiner ursprünglichen negativen Ladung (Abb.19). Dies lässt eine Wechselwirkung zwischen N_1-Stickstoff und dem ortho-Substituenten vermuten, die jedoch nur bei planarer Anordnung des Phenylrings zu erwarten ist.

Eine Berechnung der günstigsten Molekülkonformation, ebenfalls ermöglicht durch die CNDO/2-Methode, soll Aufschluss über die energetisch bevorzugte Stellung der Substituenten bringen.

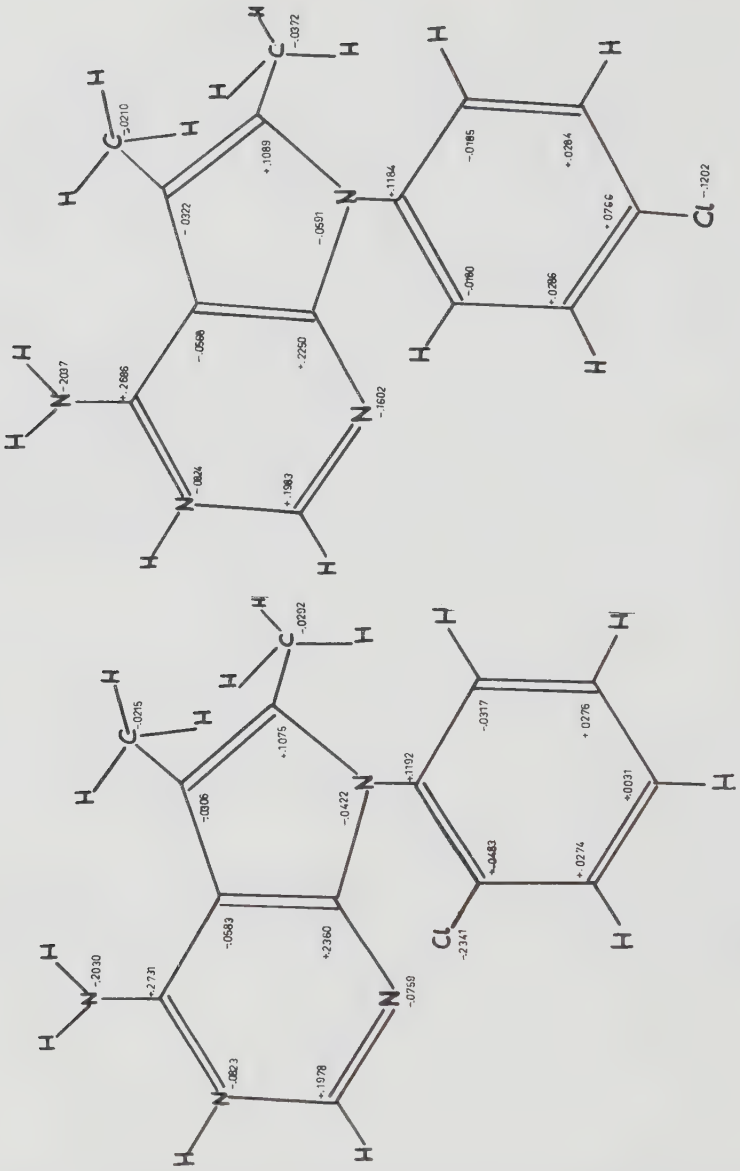
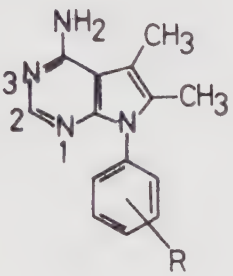


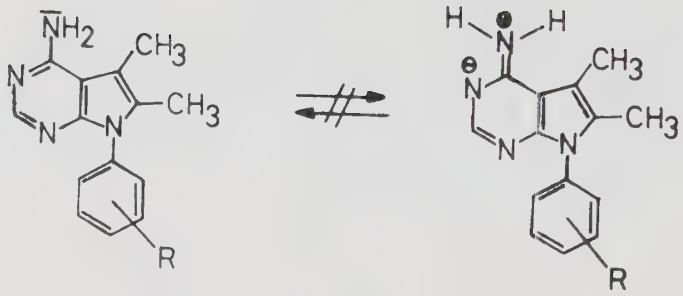
Abb.19) zeigt die Ladungsdichten der protonierten para-Chlorverbindung und der protonierten ortho-Chlorverbindung.

7. Bestimmung des basischen Zentrums.

Die Berechnung der Ladungsdichten erlaubt ebenfalls Aussagen über den möglichen Ort der Protonierung.
Im spektroskopischen Teil der Untersuchungen konnte der wahrscheinlichste Ort der Protonierung im Bereich der Positionen 1,2,3, im Pyrimidinring gefunden werden.



Die bei der unprotonierten Base errechnete Ladungsverteilung (Abb.18) zeigt nun exakt, daß das Stickstoffatom in Position 3 die größte negative Ladung trägt und deshalb als Ort der Protonierung anzusehen ist.
In Analogie zum Pyrimidinsystem wäre die Protonierung auch beim Pyrrolopyrimidin über die Ausbildung eines cyclischen Amidins vorstellbar. Die nur relativ geringen Änderungen der Ladungsdichten in Pos. 2 und 4 bzw. am Aminstickstoff lassen jedoch eine Mesomeriestabilisierung in dieser Form unwahrscheinlich werden. (Abb.20)



(Abb.20)

8. Berechnung der Konformation des Ringsystems.

Die Konformationsberechnungen werden in 30°-Schritten für die Drehung des Phenylrings um die N-C-Bindung mit Hilfe der CNDO/2-Methode durchgeführt.

Man erhält auf diese Weise CNDO'-Konformationsenergien für jede berechnete Position.

Der größte Energiegewinn, der aus der Drehung in eine bestimmte Lage resultiert zeigt dann die bevorzugte Konformation. Tab.9

Aus den E-Werten der Tabelle lässt sich ablesen, daß der nicht substituierte bzw. para-substituierte Phenylring sich bevorzugt in 60°-Stellung anordnet.(Abb.21)

Ausnahme ist die para-Brom-Verbindung deren sehr geringe Energieunterschiede auch die planare Position wahrscheinlich werden lassen. (Abb.22)

Dagegen ordnet sich der ortho-substituierte Phenylring überraschenderweise planar an und nicht in 90°-Stellung wie aus der Modellkonstruktion zu erwarten wäre. (Abb.23)

Für die planare Stellung- gibt es zwei Möglichkeiten:

Der ortho-Substituent und die Methylgruppe sind benachbart (0°).

Der ortho-Substituent und der Phenylring sind benachbart (180°).

7-DESAZAPURINE

CNDO-KONFORMATIONSENERGIEN in Kcal/Mol

	O-Cl	O-Br	2,4-Cl_2	O-OCH_3	O-OCH_3 planar
0	356,537	326,193	31,591	644,515	
30	384,280	459,376	59,850	-	791,062
60	463,760	663,137	139,043	282,099	
90	460,037	653,156	135,289	801,777	
120	462,157	656,939	137,415	804,834	
150	478,680	697,289	154,045	804,949	803,172
180	499,973	690,339	175,620	805,260	
ΔE 90-180	39,936	37,181	40,331	3,483	
			ΔE 90-150 44,131		

7-DESAZAPURINE

CNDO-KONFORMATIONSENERGIEN in Kcal/Mol

	-H	4'-F	4'-Cl	4'-Br	4'-CH_3	4'-OCH_3
0	780,858	712,778	456,986	668,197	236,144	802,491
30	781,553	713,465	457,597	668,791	236,869	803,237
60	782,385	714,332	458,339	669,470	237,738	804,141
90	781,745	713,724	457,670	668,791	237,111	803,536
Δ E 0-60	1,527	1,554	1,353	1,273	1,594	1,650

Die Tabelle 9 zeigt die CNDO/2-Konformationsenergien in Kcal/Mol.

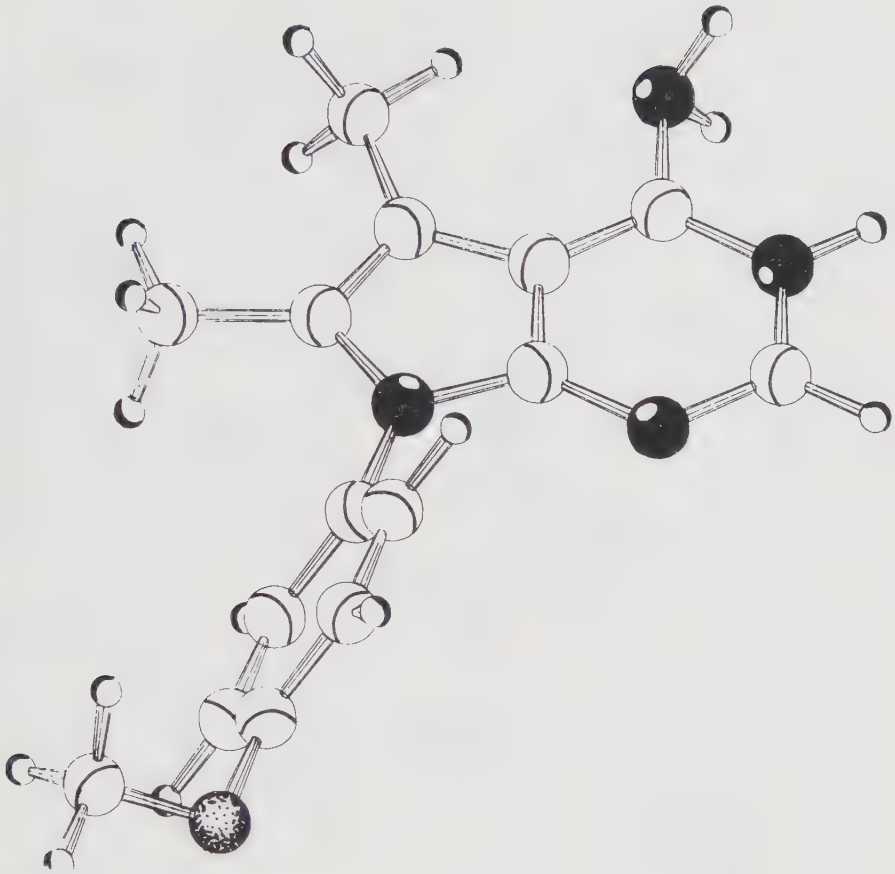


Abb. 21) zeigt die berechnete Konformation des para-Methoxy-Derivats.

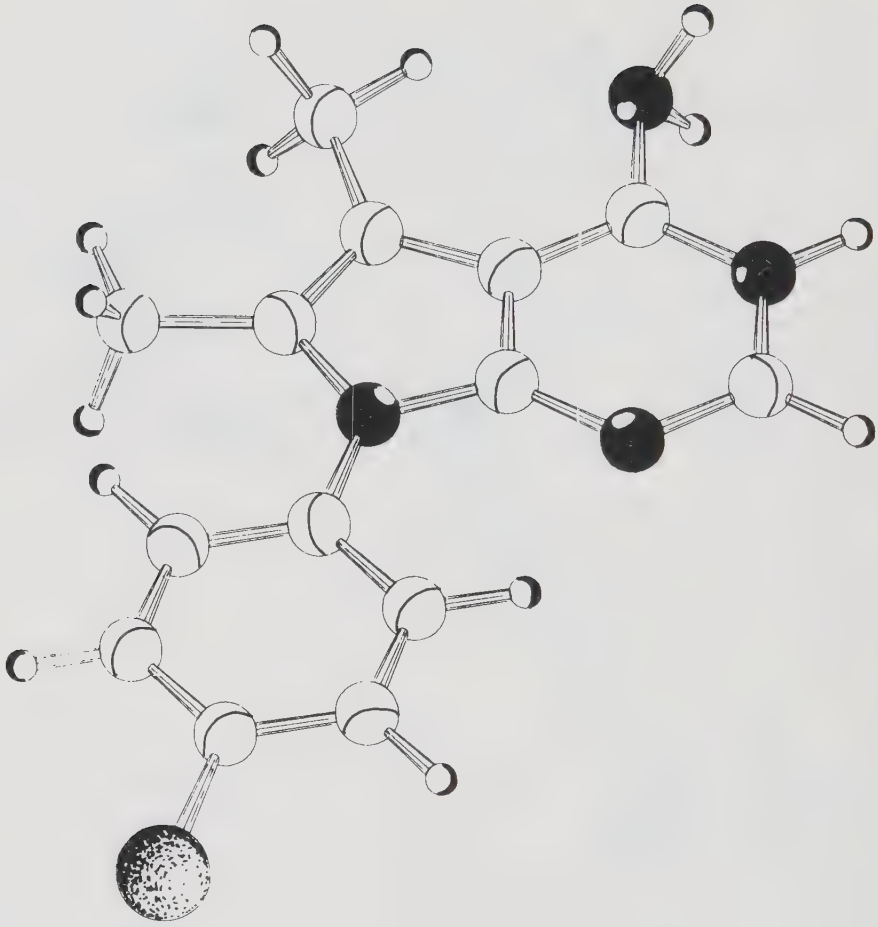


Abb.22) zeigt die berechnete Konformation des para-Brom-Derivats.

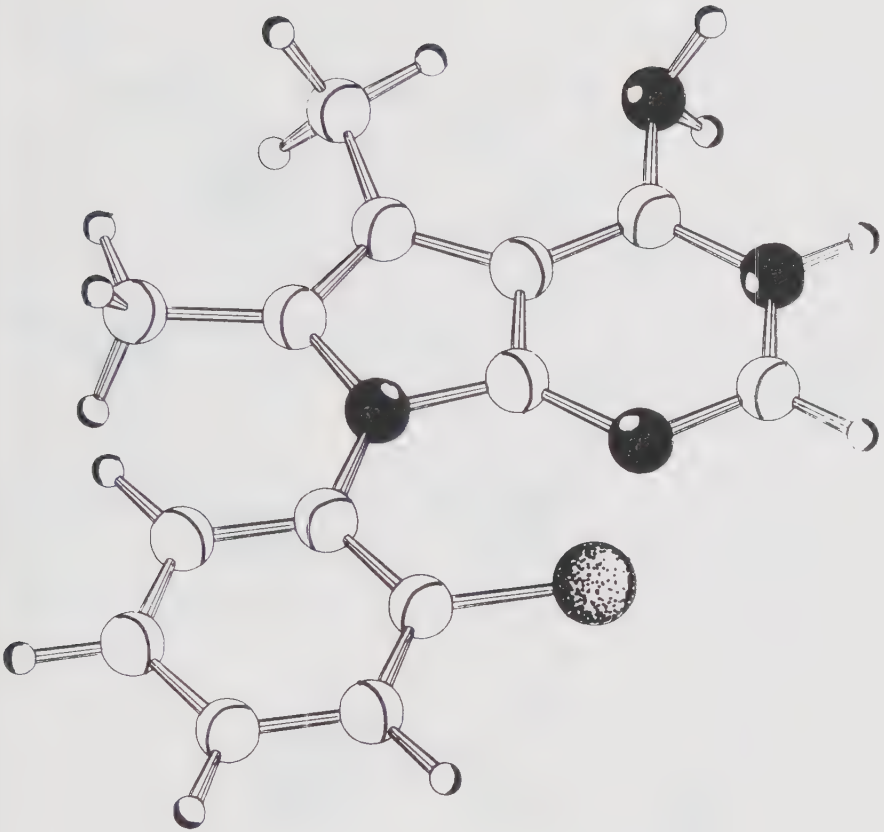
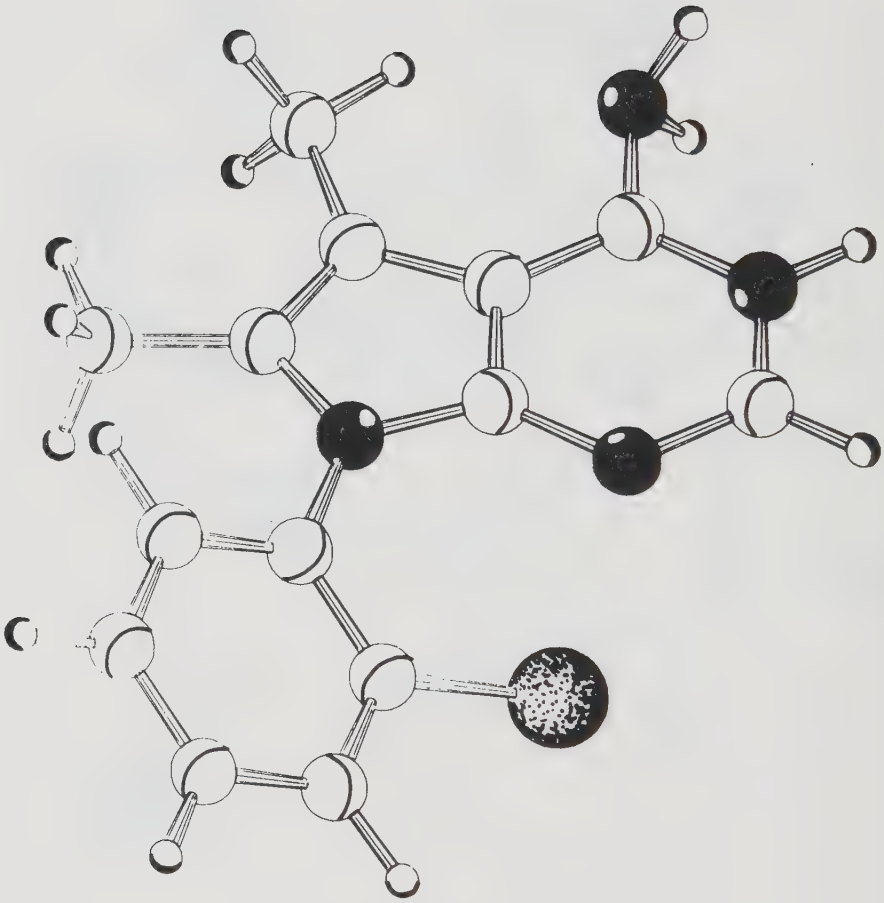


Abb.23) zeigt die berechnete Konformation des ortho-Chlor-Derivats.



Die Abb.24) zeigt die berechnete Konformation des ortho-Brom-Derivats.

Die größten Energiegewinne werden für die 180°-Stellung gefunden, lediglich die voluminöse ortho-Bromverbindung ordnet sich mit einem geringen Energieunterschied von etwa 7kcal/mol in 150°-Stellung an.(Abb.24)

Die Absolutbeträge der Energien sind mit Werten um 40kcal/mol sehr groß, sodaß die Wahrscheinlichkeit für diese Konformation entsprechend hoch ist.

Diese Ergebnisse werden bestätigt durch die in Kap. 6 gefundenen Wechselwirkungen zwischen dem ortho-Chlor-Substituenten und dem Pyrimidinstickstoff.

Die durch die Konformationsenergien angezeigt hohe Stabilität in der planaren Anordnung kann durch diese elektronischen Wechselwirkungen erklärt werden.

9. Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung der physikochemischen Eigenschaften von Pyrrolopyrimidinen. Es werden entsprechende Parameter bestimmt, und es wird versucht mit deren Hilfe zu Aussagen über Struktur- Wirkungsbeziehungen zu kommen.

Die wesentlichen Ergebnisse der Arbeit sind folgende:

Die Pyrrolopyrimidine erweisen sich in allen pH-Bereichen beachtlich stabil.

Es werden Salze mit verschiedenen Säuren gebildet. Sie erhöhen die Wasserlöslichkeit nur schwach.

Die pka-Werte der Pyrrolopyrimidine liegen zwischen 3,5 und 5,5. Das basische Zentrum als Ort der Protonierung befindet sich in Position 3 am Pyrimidinstickstoff.

Die Rm-Werte werden bestimmt. Sie liegen zwischen 2,13 und 4,03.

Die Verteilungskoeffizienten werden mit einer Zweiphasentitration erfasst. Die Werte bewegen sich zwischen 22224 und 208335.

Im spektroskopischen Teil werden die Verbindungen durch IR, UV, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR und Massenspektren charakterisiert.

Mit HIlfe der Daten werden die elektronischen Verhältnisse im Moleküö analysiert und der Ort der Protonierung bestimmt.

Die Ladungsdichten werden für verschiedene Substituenten der protonierten und nicht protonierten Form berechnet.

Die Berechnungen ergänzen die spektroskopischen Ergebnisse und sichern sie ab.

Mit Hilfe der CNDO/2-Methode werden die Lösungskonformationen einiger Verbindungen bestimmt. Unerwarteterweise zeigen die Substanzen mit ortho-substituiertem Phenylring eine koplanare Anordnung, während die meta- oder para-substituierten Verbindungen eine 60°-Stellung zur Molekülebene bevorzugen.

Spezieller Teil

Allgemeine Bemerkungen.

Die IR-Spektren sind mit dem Beckman Spektrometer IR-33 Laufzeit 9 min. aufgenommen worden.

Die UV-Spektren wurden mit dem Spektrometer " Spectromic 505 " der Firma Bausch und Lomb, sowie mit dem Beckman DB-GT Spektrometer aufgenommen.

Sie ^{1}H-NMR Spektren wurden mit dem Varian Spektrometer T 60 aufgenommen; als innerer Standard diente TMS.

Für die ^{13}C-NMR Spektren wurde das Varian Spektrometer CFT 20 verwendet. Die Anzahl der Data-Points betrug 8192, innerer Standard war d_6-DMSO.

Die Massenspektren wurden mit einem Gerät der AEI Manchester MS aufgenommen.

Die CNDO/2-Berechnungen wurden auf der AEG-Telefunken Anlage der Universität Würzburg ausgeführt.

Für die Rm-Bestimmungen wurden Kieselgelplatten G_{254F} der Firma Merck verwendet.

Die pH-Bestimmungen erfolgten mit einem pH-Meter DIGI520 der Firma WTW.

Durchführung der Versuche.

1. Bestimmung der pka-Werte.

Der Aufbau der Apparatur ist in Kapitel 2.1. beschrieben.
Die Elektrode wird bei pH 3 und pH 7 auf 0,02 Einheiten geeicht.
Das Reaktionsgefäß ist auf 25°C thermostatiert.
0,005mol der Substanz werden in 50ml Methylenchlorid p.a. gelöst, mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers versetzt und in das Reaktionsgefäß gegeben. Der verbleibende Raum im Reaktionsgefäß wird mit Stickstoff gesättigt. Man läßt 30 sek. rühren, nach weiteren 30 sek., in denen sich die Phasen trennen, liest man die pH-Wert ab. Danach erfolgt die erste Säurezugabe von 0,5ml. Wiederum läßt man 30 sek. rühren, 30 sek. trennen und liest den nächsten pH-Wert ab.
Nach Beendigung der Titration wird der pka-Wert wie oben beschrieben errechnet.

2. Bestimmung der Verteilungskoeffizienten.

Sie erfolgt analog der Bestimmung der pka-Werte.
Die Einwaage beträgt 0,01Mol/1. Die jeweilige Säurezugabe ist 1 Äquivalent also 0,5ml 0,01N H_2SO_4.

Die Reaktionslösung besteht aus 50 ml wassergesättigtem Methylenchlorid p.a. plus 50 ml metylenchlorid gesättigtem Aqua dest. Zur genauen Einhaltung der Volumina werden diese mit einer Bürette abgemessen.
Nach Zugabe von 10 Äquivalenten Säure wird die Titration abgebrochen und der Verteilungskoeffizient wie oben angeführt berechnet.

3. Bestimmung der Rm-Werte.

3.1. Imprägnierung der Platten.

Durch Entwicklung in einer 5%igen Paraffinlösung in Hexan werden die Platten imprägniert.
Nachdem das Lösungsmittel bis ans Plattenende gelaufen ist, belässt man die Platten noch 12 Stunden im Chroatographietank. Nach 12 Stunden Lufttrocknung sind die Platten verwendungsfähig.

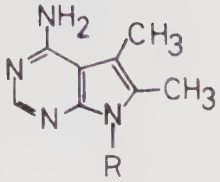
3.2. Auftragen der Substanzen.

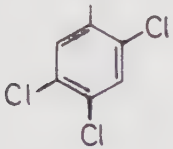
Die Substanzen werden 2cm vom unteren Plattenrand in einem Abstand von 2cm zueinander aufgetragen.
Die Entfernung von den Seitenrändern sollte ebenfalls etwa 2cm betragen.
Mit Hilfe von Mikropipetten werden ungefähr 5 Mikroliter der Substanz aufgebracht. Nach dem Trocknen können die Platten entwickelt werden.

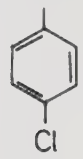
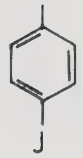
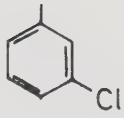
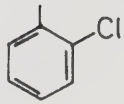
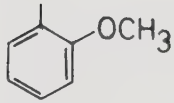
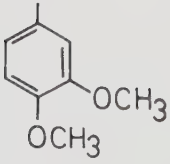
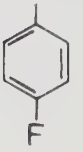
3.3. Chromatographie

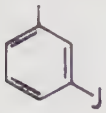
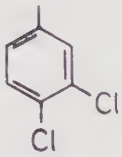
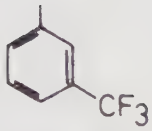
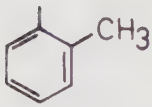
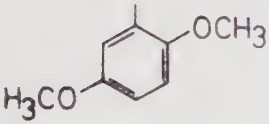
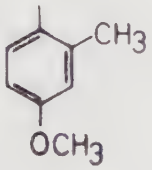
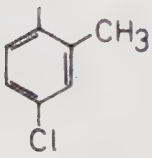
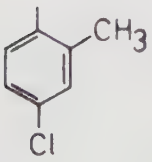
Als mobile Phase dient ein Puffer pH 7 (Phosphatpuffer) allein und in Mischungen mit verschiedenen Mengen Aceton.
Man entwickelt in Mischungsverhältnissen von 0-40%Aceton/Puffer. Die Laufstrecke beträgt 12 cm. Die entwickelten Platten werden nch dem Trockner unter UV-Licht ausgewertet und die Rf-Werte bestimmt. Die Umrechnung im Rm-Werte und graphische Auftragung erfolgen nach der in Kapitel 3.1. beschriebenen Weise.

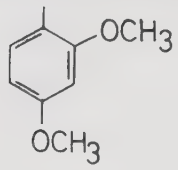
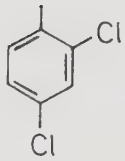
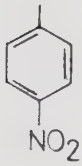
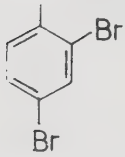
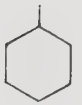
Tabelle der in der Arbeit untersuchten Verbindungen.

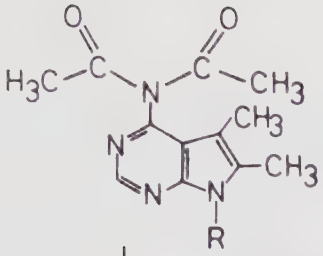


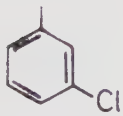
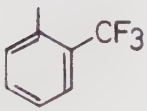
R	Verb. Nr.
	(1)
	2
	3
	4
	5

R	Verb. Nr.
	6
	7
	8
	9
	10
	11
	12
	13

R	Verb. Nr.
	14
	15
	16
	17
	18
	19
	20
	21

R	Verb. Nr.
	22
	23
	24
$(CH_2)_5CH_3$	25
	26
	27
H	31



R	Verb. Nr.
$(CH_2)_5-CH_3$	28
	29
	30

Verzeichnis der verwendeten Symbole.

pka	negativer dekadischer Logarithmus der Dissoziationskonstanten.
σ	Konstante für den Resonanzeinfluß eines Substituenten.
σ^-	Konstante für den Resonanzeinfluß eines Substituenten bei direkter Bindung an Aromaten.
σ_o	Konstante für den Resonanzeinfluß eines Substituenten in ortho-Stellung.
I	Ionenstärke
P	Verteilungskoeffizient
π	Konstante für den lipophilen Beitrag eines Substituenten.
Rf	Verhältnis der Laufstrecken des Laufmittels und des Substanzflecks.
Rm	Lipophilieparameter $Rm = \log (\frac{1}{Rf} - 1)$
ε	molarer Extinktionskoeffizient
δ	chemische Verschiebung
F	Feldeffekt
R	Resonanzeffekt

Literaturverzeichnis

1) H.J.Roth u.K.Eger Arch.Pharm.(Weinheim)308,252(1975)

2) H.J.Roth u.K.Eger Arch.Pharm.(Weinheim)308,186(1975)

3) W.Zimmermann,K.Eger u.H.J.Roth Arch.Pharm.(Weinheim)309,597 (1976)

4) M.Kim-Su,K.Eger u.H.J.Roth Arch.Pharm.(Weinheim)309,721(1976)

5) S.Issa, Dissertation Bonn(1978)Referent H.J.Roth

6) L.P.Hammet,Chem.Rev.17,125(1935)

7) A.Albert and E.P.Serjeant, Ionisation Constants of Acids and Bases Methuan, London 1962

8) P.A.Johansson und K.Gustavii, Acta Pharm.Suec.13,407(1976)

9) J.J.Kaufman and W.Koski,J.Med.Chem.18,647(1975)

10) H.Meyer,Arch.Exp.Pathol.Phamakol.42,110(1899)

11) E.Overton,Studien über Narkose,Fischer,Jena(1901)

12) R.Collander,Physiol.Plant.7,420(1954)

13) C.Hansch et al,J.Amer.Chem.Soc.85,2817(1963)

14) C.Hansch et al,J.Amer.Chem.Soc.86,1616(1964)

15) Seydel u.Schaper,Chem.Struktur u.biologische Aktivität von Wirkstoffen,Verlag Chemie,Weinheim(1979)

16) R.Collander,Physiol.Plant.7,420(1954)

17) J.W.Mc.Farland,J.Med.Chem.13,1192(1970)

18) E.J.Ariens,Drug design,Vol I Academic Press New York, London(1972)

19) W.Scholtan,Arzneimittelforschung 5,505(1968)

20) E.Lien,C.Hansch,S.M.Anderson,J.Amer.Chem.Soc.11,430(1967)

21) W.scholtan,Arzneim.Forschg.5,505(1968)

22) Reese et al,J.Pharm.Sci.53,591(1964)

23) F.Klages,Lehrbuch der organischen Chemie,Band II,176 Walter de Gruyter,Berlin 1962

24) S.Issa,DissertationBonn,1978 Referent: H.J.Roth

25) IR 1023 A in Charles I.Pouchert "The Aldrich lebrary of infrared spectra", Aldrich Chemical Company Co.,inc.1970

26) H.A.Staab,Einführung in die theoretische organische Chemie Verlag Chemie, Weinheim, 4.Auflage(1975)
27) C.Hansch et al,J.Med.Chem.16,1207(1973)

28) DH,Mc.Daniel,H.C.Brown,J.org.Chem.23,420(1958)

29) Th.Tribble,J.Traynhem,J.Am.Chem.Soc.91,379(1969)

30) C.G.Swain and E.C.Lupton,Jr.,J.Amer.Chem.Soc.90,4328(1968)

31) H.Pichler,geplante Dissertation,Bonn Referent: H.J.Roth

32) J.P.Riley, F.Heatly and Ian Hillier,J.Chem.Soc.II,Perkin 1327(1980)
33) R.J.Pugmire and D.M.Grant,J.Amer.Chem.Soc.,93,1880(1971)

Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn unter Anleitung von Herrn Professor Dr. H. J. Roth im Dezember 1977 begonnen und im März 1980 zu Ende geführt.

Meinem Lehrer, Herrn Professor Dr. H. J. Roth danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, die er durch wertvolle Hinweise und Ratschläge ständig förderte.

Herrn Dr. K. Eger sei an dieser Stelle für seine kollegiale Zusammenarbeit und seine stete Diskussionsbereitschaft gedankt, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich danke Herrn Prof. H. D. Höltje aus Frankfurt für die Durchführung der CNDO/2-Berechnungen.

Herrn Prof. A. W. Frahm danke ich für die Aufnahme und Interpretation der ^{13}C-NMR Spektren.

Herrn Dr. G. Eckard vom Institut für organische Chemie der Universität danke ich für die Aufnahme und Interpretation der Massenspektren.

Ich danke allen Institutskollegen die wertvolle Diskussionsbeiträge geleistet haben und hier besonders meinem Freund und Kollegen Dr. W. Zimmermann für seine stetige Hilfsbereitschaft.

LEBENSLAUF

25.03.1953	Geboren in Andernach als Sohn des Elektromaschinenbaumeisters Walter Folkers und dessen Ehefrau Katharina Folkers geb. Stölzgen.
Ostern 1959-1963	Besuch der Volksschule in Namedy
1963-1972	Besuch des Staatl. Kurfürst-Salentin-Gymnasiums in Andernach
15.05.1972	Reifeprüfung
SS 1973 - WS 1976	Studium der Pharmazie in Bonn
29.09.1976	2. Prüfungsabschnitt der Pharm.Prüfung
15.10.1976-15.10.1977	Praktikum in der Bahnhof-Apotheke in Andernach
04.11.1977	3. Prüfungsabschnitt der Pharm. Prüfung in Düsseldorf
Ab 01.12.1977	Doktorand bei Prof. Dr. H. H. Roth am Pharm. Institut der Universität Bonn
22.02.1978	Approbation als Apotheker